Histometrische Untersuchungen am Hodeninterstitium von Stieren mit Störungen der Spermatogenese und der Libido

HARTMUT STRÖBEL

1967

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41546019_0092

Aus der Abteilung für Andrologie und Künstliche Besamung an der
Gynäkologischen und Ambulatorischen Tierklinik
der Universität München
Leiter: Prof. Dr. W. LEIDL

HISTOMETRISCHE UNTERSUCHUNGEN AM HODENINTERSTITIUM VON STIEREN MIT STÖRUNGEN DER SPERMATOGENESE UND DER LIBIDO

Inaugural - Dissertation
zur
Erlangung
der
veterinär-medizinischen Doktorwürde
der
Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität
München

von
Hartmut Ströbel
aus
Crailsheim

München
1967

Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät
der Universität München

Dekan:	Professor Dr. A. Herrlich
Referent:	Professor Dr. W. Leidl
Tag der Promotion:	27. Februar 1967

UNIV. LEIDEN BIBL.

Meinen Eltern

INHALTSVERZEICHNIS

I. Einleitung 1

II. Literatur 3

A) Histologie und Endokrinologie des Hodens 3

1) Histologie des Hodens 3
a) Histologie und Histochemie unreifer Leydigzellen 4
b) Die Zytomorphose der Leydigzellen 7
c) Histologie und Histochemie der reifen Leydigzellen 9

2) Endokrinologie des Hodens 12
a) Die Biosynthese der Androgene 14
b) Die Wirkung der Androgene auf die Spermatogenese 16

B) Fortpflanzungsstörungen beim Stier 19

1) Einteilung der männlichen Infertilität 19

2) Die Libido sexualis und ihre Störungen 21

3) Die Störung der Spermatogenese 24

C) Zellfunktion und Kerngröße bei endokrinen Organen 27

III. Eigene Untersuchungen 31

1) Material 31

2) Einteilung des Materials 33

3) Herstellung der Präparate 34
a) Gefrierschnitte 34
b) Paraffinschnitte 34

4) Histometrische Technik 36
a) Bestimmung der Flächengröße der Leydigzellkerne 36
b) Bestimmung der prozentualen Flächenanteile von Tubuli, Leydigzellen und Bindegewebe 38
c) Fehlerberechnung 38

5) Ergebnisse 42

a) Prozentuale Flächenanteile der Tubuli, der Leydigzellen und des Bindegewebes im Paraffinschnitt 42

b) Flächenanteil der Leydigzellen bei Gefrier- und Paraffinschnitten 44

c) Flächengröße der Leydigzellkerne im Paraffinschnitt bei 2 300-facher Vergrößerung 44

d) Anzahl der Leydigzellkerne und - anschnitte in einer bestimmten Fläche 45

6) Tabellen 45

IV. Diskussion 55

V. Zusammenfassung 61

VI. Literaturverzeichnis 65

I. EINLEITUNG

Die Fertilität und das geschlechtliche Verhalten können beim Bullen durch verschiedene exogene und endogene Faktoren beeinflußt werden.

Bei einer Insuffizienz des Germinativums und bei einer verminderten oder fehlenden Libido sexualis wird man in vielen Fällen über die Ätiologie dieser Störungen im unklaren bleiben, wenn Anamnese und klinische Untersuchung keine eindeutigen Hinweise ergeben. Es liegt bei solchen Patienten nahe, die Ursache des Funktionsausfalles in einer ererbten oder erworbenen hormonalen Subfunktion zu suchen, ohne daß es möglich ist, diese Diagnose zu objektivieren.

Eine endokrine Hodeninsuffizienz, die schon praepuberal auftritt, wird sich auf die somatische Prägung, die androgenabhängig ist, auswirken, während sich dieses Symptom bei inkretorischen Störungen des Hodens beim maturen Bullen in dieser Form nicht mehr manifestiert.

Während beim Menschen zur Differenzierung des Hypogonadismus die Bestimmung der Gonadotropine, der Androgene und ihrer Abbauprodukte herangezogen wird, sind derartige Verfahren beim Bullen in der klinischen Diagnostik noch nicht praxisgerecht erarbeitet. Da die Hormone in der Regel aus der 24-Stunden-Harnmenge ermittelt werden, ergeben sich bereits Schwierigkeiten beim Sammeln dieses Harnes.

Einfachere Teste, wie z. B. der Fruktosenachweis im Sperma, der indirekt Aufschluß über die Androgenproduktion gibt, reichen für die Diagnostik beim Bullen nicht aus, da wegen der enormen physiologischen Schwankungen damit Subfunktionen des endokrinen Systems nicht erfaßt werden können.

Als letzte diagnostische Möglichkeit, die sich allerdings erst post mortem durchführen läßt, sei die histologische Untersuchung des Testes genannt. Sie eröffnet zwar die Möglichkeit, über den Ablauf der Spermatogenese eine genaue Aussage zu machen, der endokrine Anteil des Hodens bleibt jedoch wiederum für eine quantitative Erfassung unzugänglich, da man dazu noch über keine geeigneten Methoden verfügt.

Für den Kliniker und den Gutachter ist es aber gleichermaßen unbefriedigend, über die Funktion des hormonproduzierenden Zwischengewebes keinen Aufschluß zu erhalten.

Es wurde in dieser Arbeit der Versuch unternommen, eine objektive histometrische Methode zur Erfassung des endokrinen Anteils der Testes in die Diagnostik einzuführen. Damit soll zugleich ein Beitrag geliefert werden, der diese Lücke im Untersuchungsgang schließt.

Selbst wenn es in absehbarer Zeit möglich sein wird, die Hormone auf chemisch-analytischem Wege quantitativ zu bestimmen, wird eine solche einfache Methode nicht an Bedeutung verlieren, da auch das morphologische Bild der Zelle, im Zusammenhang mit der Funktion, von Interesse ist.

II. LITERATUR

A) Histologie und Endokrinologie des Hodens

1) Histologie des Hodens

Die Hoden haben zwei Funktionen: In ihrer Eigenschaft als Drüsen dienen sie einerseits der Bereitung von Keimzellen (exokrine Funktion) und andererseits der Synthese von Geschlechtshormonen (endokrine Funktion).

Die germinative Aufgabe nehmen die Tubuli seminiferi contorti wahr. In ihnen reifen die männlichen Samenzellen, die Spermien, durch schrittweise Proliferation und Transformation aus einer Stammzelle oder A-Spermatogonie heran. Die vielfachen Teilungsvorgänge der Spermatogenese können beim Bullen in acht Phasen eingeteilt werden (17, 101).

Im intertubulären Raum finden sich die Leydigschen Zwischenzellen. Ihnen wird die Bildung der Sexagene zugeschrieben (24, 58, 59, 77, 86, 106).

Das Hodenparenchyn wird von einer derben, unnachgiebigen Kapsel umschlossen und unter einem hohen Binnendruck gehalten. Von der Tunica albuginea testis, die aus kollagenen und elastischen Fasern besteht, strahlen die Septula testis in den Hoden und fügen hiermit jeweils 2 - 4 Samenkanälchen zu funktionellen Einheiten, den Lobuli, zusammen. Beim Bullen bleibt diese Trennung der Tubuli durch die Nerven und Gefäße führenden Bindegewebssepten zu Lobuli unvollständig (64).

Die Tubuli contorti münden in das zentrale Rete testis und enden blind an der peripher gelegenen Basis eines Lobulus.

Das Stroma eines Hodenläppchens besteht aus einem zarten Netzwerk retikulärer Fasern. Zur Verfestigung sind darin vereinzelt stärkere kollagene Fibrillen eingelagert. In diesem lockeren Bindegewebe liegen Fibrozyten und Leydigzellen. Die interstitiellen Zellen finden sich einzeln, in Strängen oder in Gruppen bis etwa 20 Stück in Nähe der Gefäße oder an den Wandungen der Samenkanälchen (50, 129).

a) Histologie und Histochemie unreifer Leydigzellen

Nach der Amphimixis ist das Geschlecht eines Individuums genetisch fixiert. Es sind jedoch keine Kriterien bekannt, die es erlauben würden, schon zu diesem Zeitpunkt die Geschlechter zu unterscheiden (15, 64).

Die histologische Differenzierung von Hoden und Ovar gelingt erst bei 25 mm langen Rinderembryonen. Äußere Merkmale können in diesem frühen Stadium für eine Geschlechtsbestimmung noch nicht herangezogen werden. In der 7. Trächtigkeitswoche, bei einer Länge des Keimlings von 30 mm, treten im Hodenstroma Zellen mit großen, runden, bläschenförmigen Kernen (5,5 - 7,4 /u) auf, deren Nucleoli exzentrisch liegen. Genaue Zellgrenzen sind noch nicht erkennbar. Die Kerne liegen verstreut in einer Masse chromophilen Plasmas, das den Raum zwischen den Samenkanälchen ausfüllt. Da der Kern der Leydigzellen beim erwachsenen Stier dieselbe Gestalt und Größe hat und da das Zytoplasma mengenmäßig gleich ist, werden diese Zellen für die endgültig differenzierten Leydigzellen gehalten (15).

Diese Ansicht wird jedoch von anderen Autoren nicht geteilt. Sie vertreten vielmehr die Meinung, daß zwei verschiedene Generationen von Leydigzellen auftreten: eine foetale Generation und eine andere, die postnatal oder zur Zeit der Pubertät erscheint (58). Eine überzeugende Erklärung für das Phänomen, daß eine Zelle, zeitlich verschieden, zwei unterschiedliche Erscheinungsformen zeigt, konnte noch nicht gegeben werden. Die folgenden Beobachtungen scheinen jedoch die Richtigkeit dieser Ansicht zu bestätigen. Der menschliche Hoden läßt im 3. und 4. Foetalmonat eine deutliche Proliferation der interstitiellen Zellen erkennen. Von der reifen Leydigzelle unterscheiden sich diese Zellen durch ein organisiertes, granuläres, endoplasmatisches Retikulum vom lamellären Typ. Der Golgiapparat fehlt oder er ist nur schwach entwickelt. Diese feine strukturelle Differenz drückt sich auch in der Zusammensetzung der Androgene beim foetalen und beim erwachsenen Individuum aus (51). Bei der Ratte weist die Verteilung und die Form zwischen reifen und unreifen Leydigzellen erhebliche Unterschiede auf, so daß auch bei diesem Tier auf zwei verschiedene Generationen geschlossen wird (99). Für das Rind sind zwar zwei verschiedene Generationen nicht beschrieben, jedoch die Tatsache, daß bei einem Monat alten Kälbern weder unreife noch reife Leydigzellen gefunden werden, sondern der ganze intertubuläre Raum von mesenchymalen Geweben eingenommen wird (59), spricht dafür, daß die foetale Generation bereits verschwunden ist und eine neue erst später in Erscheinung tritt.

In der Neugeborenenphase ist das histologische Bild des Hodens durch weite intertubuläre Räume gekennzeichnet, die mit mesenchymalen Zellen gefüllt sind. Die Zellen mit ihrem sternförmigen oder fusiformen Plasma enthalten einen ovoiden oder runden Kern mit groben Chromatinschollen. Sie liegen entweder allein oder sie haben durch Plasmafortsätze Verbindung zur Nachbarzelle (39, 42). Es liegen aber Anzeichen dafür vor, daß einige dieser Zellen bei einem eine Woche alten Kalb bereits sezernierende Leydigzellen sind (42). Die Zahl der Leydigzellen scheint um die 9. Lebenswoche anzuwachsen, begleitet von einer, nach Meinung der Autoren, verstärkten Libido. Allgemein vermehrten sich die interstitiellen Zellen ab der 19. Woche (42).

An der Gestalt und Form der mesenchymalen Zellen tritt bis zum 3. Monat p.n. keine Veränderung ein. Nach 3 1/2 Monaten erscheinen verschiedene Zelltypen. Der eine erinnert mehr an Fibroblasten, während der andere mehr den Leydigzellen gleicht. Das Plasma, zunächst noch sternförmig, erlangt im weiteren Wachstum immer mehr eine polygonale Form. Der Kern ist bereits sphärisch und dem erwachsenen Leydigzellkern ähnlich.

Das Ansprechen der Leydigzellen allein nach morphologischen Gesichtspunkten ist bei diesem Entwicklungsgrad problematisch, da das intertubuläre Gewebe des postnatalen und praepuberalen Hodens wenig differenziert ist. Für diese Zellen verwendet man besser den Begriff interstitielle Zellen und behält die Bezeichnung Leydigzelle den eindeutig zu erkennenden hormonproduzierenden Zellen vor.

Die Einführung histochemischer Methoden in die Zytologie ermöglicht es, die Leydigzellen von der Geburt an bis zur Pubertät klar von anderen zelligen Elementen des Interstitiums zu unterscheiden (11, 12). Mit der PAS-Technik konnte eine Kontinuität zwischen der vermuteten foetalen und puberalen Gneration der Zwischenzellen bei der Maus aufgezeigt werden. Daraus wird gefolgert, daß es nur eine Generation Leydigzellen gibt (12).

Sudanophile Lipide sind im Mäuse- und Rattenhoden zur Zeit der Geburt in Tropfen im Zytoplasma verteilt. In den ersten Lebenswochen nimmt die Lipidmenge stetig ab (12, 99).

Die foetalen Testes der Ratte erreichen ihre endokrine Leistungsfähigkeit gleichzeitig mit der morphologischen Differenzierung. Noch bevor die Leydigzellen mit der PAS-Methode nachzuweisen sind, beginnen sie mit der Produktion eines androgen-ähnlichen Substrates. Das Hormon konnte nicht eindeutig als Testo-

steron bestimmt werden, zytochemisch fand man jedoch die 3 β- ol - Steroid - Dehydrogenase ein Enzym, das essenstiell für die Testosteronproduktion ist (55). Aus der großen Aktivität der saueren Phosphatase und der unspezifischen Esterase in den Vakuolen des Golgiapparates bei menschlichen Foeten schloß man auf die Synthese foetaler Androgene (62).

b) Die Zytonorphose der Leydigzellen

Als Vorläufer der Leydigzellen zog man schon eine Vielzahl von Zellen in Betracht, einschließlich der Nervenzelle (51, 58).

In der Literatur scheint sich jedoch immer mehr die Auffassung durchzusetzen, daß die interstitiellen Zellen aus Mesenchymzellen hervorgehen (12, 42, 51, 58, 59). Die Tatsache, daß die intertubulären Räume im postnatalen Hoden ausschließlich von mesenchymalem Bindegewebe eingenommen werden und die Beobachtung intermediärer Stadien zwischen Leydig- und Mesenchymzelle bestärkte die Untersucher in dieser Meinung (59). Denkbar ist auch, daß Fibroblasten, die der Tubuluswand in einer dünnen Schicht aufliegen, in funktionsfähige Leydigzellen umgewandelt werden (51).

Auf der anderen Seite liegen Mitteilungen vor, daß der praenatale Hoden - beim Rattenembryo bereits mit 15 Tagen - androgene Substanzen produziert (98). Diese echte Sekretionsleistung läßt darauf schließen, daß Leydigzellen als selbständige Einheiten neben den mesenchymalen Elementen angelegt werden, diesen aber morphologisch gleichen.

Das erste sichtbare Zeichen der Transformation einer "mesenchymalen Zelle" (die vielleicht auch eine unreife interstitielle Zelle ist) zu einer reifen Leydigzelle tritt am Kern auf. Er wird rund und bläschenförmig, gleichzeitig legt sich das Chromatin auf die Kernmembran. Diese Modifikation des Nucleus schließt die Bildung von einem, zwei oder manchmal auch drei Kernkörperchen ein (12, 59).

Die Differenzierung des Zytoplasmas vollzieht sich in einem unauffälligeren Prozeß. Die gesamte Zelle nimmt allmählich an Größe zu, dabei gestaltet sich der Zelleib polygonal. Die zytoplasmatischen Fortsätze gehen verloren. (s. Abb. 1) (58).

Die Metamorphose beginnt beim Stier in einem Alter von 3 1/2 Monaten. Sobald im Zytoplasma Vakuolen auftreten, etwa zwischen dem 18. und 24. Lebensmonat, ist der Reifungsprozeß der Zelle abgeschlossen (59).

Beim jungen Tier beobachtet man noch eine Vermehrung der Leydigzellen durch Zellteilung. So beträgt z. B. nach Baillie (12) der mitotische Durchschnitt bei der 6 Wochen alten Maus 6,3 %. Von diesem Zeitpunkt an fällt er periodisch ab. Im Hoden erwachsener Mäuse sind keine mitotischen Figuren mehr zu beobachten (12).

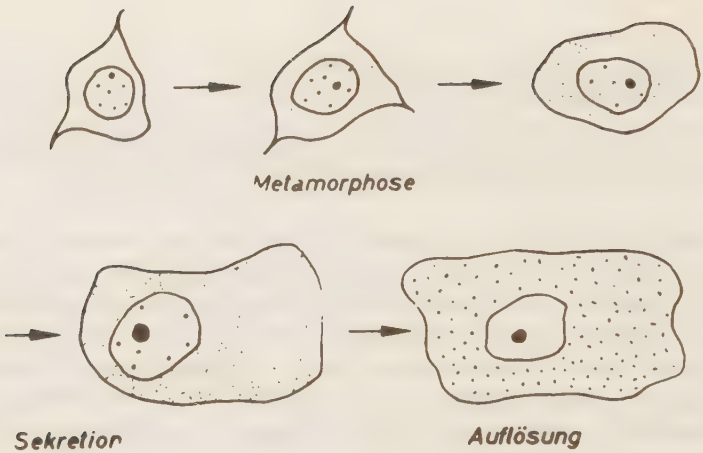


Abb. 1: Die Zytomorphose der Leydigzelle

Die ersten regressiven Erscheinungen treten beim Bullen nach dem 5. Lebensjahr sowohl am Tubulusapparat als auch im Interstitium auf. Die Zahl der Leydigzellen wird geringer, ihre Vakuolisation spärlicher, die Granula des Zytoplasmas färben sich deutlich eosinophil, das Kernchromatin nimmt ab, schließlich löst sich die Zelle auf (Abb. 1) (58, 59). Beim Menschen beobachtet man noch drei weitere Degenerationsformen: die Atrophie, die Hyalinisierung und die Vakuolisation (51).

c) Histologie und Histochemie der reifen Leydigzellen

Die vollentwickelte, funktionsfähige Leydigzelle beim Stier hat eine polygonale, epitheloide Gestalt. Der bläschenförmige, runde oder ovoide Kern dieser Zelle enthält einen, manchmal auch zwei bis drei Nucleoli. Auf der deutlich ausgebildeten Kernmembran befindet sich die Masse des Chromatins. Dieser Nucleus ist charakteristisch für die interstitiellen Zellen des Hodens und wird in dieser Form bei keiner anderen intertubulären Zelle gefunden (58).

Der Kern liegt im Zelleib meist exzentrisch. An ihn lagert sich perinucleär eine eosinophile, fein granulierte, halbmondförmige Zone an, das Endoplasma. Daran schließt sich eine helle periphere Zone, das Ektoplasma, an (123). Die eng mit dem Zellstoffwechsel verbundenen Mitochondrien und Lipidgranula versammeln sich um den Golgiapparat im Endoplasma. Das Ektoplasma läßt eine Menge bläschenförmige endoplasmatische Retikula erkennen. RNS-Teilchen beobachtet man selten im Zytoplasma (51); dagegen finden sich an verschiedenen Stellen Vakuolen von unterschiedlicher Größe (59).

Eine perizelluläre, membranöse Struktur aus einem Netzwerk argyrophiler Fasern und einer sol-ähnlichen interfibrillären Grundsubstanz umhüllt eine Gruppe dieser entfalteten Zellen. Die Bildung der Membran tritt nach der Reife der Leydigzellen ein und steht mit einer bestimmten Sekretionsphase in Beziehung (51).

Legt man bei der Beschreibung der Leydigzellen die Klassifizierung von Sniffen (123) zugrunde, so ist die geschilderte Zelle dem Typ C zuzuordnen. Die Zwischenzellen des Typs A (unreife Zelle mit spindel- bis ellipsoidförmigem Kern und sternförmigem Zytoplasma) und die des Typs B (jugendliche Zelle mit rundem Kern und granuliertem Plasma) sind die Vorläufer von Typ C. In die Gruppen D und E teilt man die Degenerationsformen ein.

Die histochemische Bearbeitung des Hodens wird von dem Wunsch getragen, metabolische Prozesse der androgenen Hormone oder diese selbst und ihre Produktionsstätten darzustellen.

Nachdem einige Autoren den qualitativen Nachweis der Steroidhormone für möglich halten (8, 24, 106), versuchte man noch aus der Intensität der Reaktion quantitative Schlüsse zu ziehen.

Bei der Untersuchung der Enzyme der Zwischenzellen fiel die Reaktion für saure Phosphatase negativ aus. Dieses Enzym ist aber in den Zellkernen des Sa-

menepithels vorhanden. Dagegen ist die alkalische Phosphatase ein Bestandteil des Zellkerns. Sie wird nach Hypophysektomie nicht mehr gefunden (30).

Neben den Enzymen erforschte man jedoch in erster Linie die Bedeutung der Lipide im Hodenparenchym. Unter diesem Begriff wird eine Reihe von chemischen Verbindungen verstanden, die zu verschiedenen Stoffklassen gehören, z. B. Verbindungen mit Fettsäuren, Isoprenabkömmlinge, Karotinoide und auch die Steroide (124). Es lag daher nahe, zwischen den Lipiden der Leydigschen Zwischenzellen und den produzierten Hormonen Zusammenhänge zu vermuten.

Im Gewebe, das Steroidhormone enthält, fand man zusammen mit Lipiden aktive Karbonyl-Gruppen. Der Nachweis erfolgte mit histochemischen Methoden, die spezifisch für Ketosteroide sein sollen. Daraus schloß man, daß die Karbonyl-Gruppen Keton-Natur haben und machte für die Reaktion die Ketosteroide des Hodens verantwortlich (8). Mit einer dieser Methoden, der Phenylhydrazinreaktion nach Benett, färbten sich die Leydigzellen im Katzenhoden gelb. Andere Teile des Hodens blieben unbeeinflußt. Die Substanz, welche für die Färbung verantwortlich ist, vielleicht Steroidbestandteile oder Cholesterol, konnten mit Azeton und Alkohol entfernt werden (106).

Speziell entwickelte Reaktionsmethoden erlauben einen weiteren Einblick in die physikalische und chemische Natur dieser Lipide und ermöglichen vergleichende quantitative und qualitative Aussagen zu bestimmten Fragestellungen. Für den Nachweis von Cholesterin oder Lipiden kann man die doppelbrechende Eigenschaft dieser Verbindungen ausnützen. Jedoch muß man einschränkend sagen, daß Cholesterin, mit dem die androgenen Hormone verwandt sind, dieses Verhalten nicht immer zeigt (84).

Die Schultz-Digitonin-Reaktion ist spezifisch für Cholesterin und Cholesterinester. Ein negativer Ausfall ist jedoch kein Beweis für das Fehlen von Cholesterin (124).

Neben der Smith-Dietrich-Methode und der Schiff-Plasmal-Reaktion ist die Färbung mit Sudanfarbstoffen für den Lipidnachweis wohl am weitesten verbreitet.

Die erwähnten Methoden kamen in den folgenden Untersuchungen am häufigsten zur Anwendung. In einer vergleichenden histochemischen Studie des Lipidgehalts in den interstitiellen Zellen verschiedener Tiere traten erhebliche Schwankungen auf. Doppelbrechende und sudanophile Lipide fand man bei der Ratte nicht

oder nur in geringen Mengen. Bei der Katze dagegen fielen diese Reaktionen stark positiv aus (88). Mit Sudanfarbstoffen und der Schultz-Digitonin Reaktion konnte im Rattenhoden, sowohl in den Tubuli als auch in den interstitiellen Zellen, Cholesterin nachgewiesen werden (105). Der überwiegende Teil befand sich jedoch in den Tubuli. Dies veranlaßte den Autor zu der Schlußfolgerung, daß eine chemische Analyse des Hodengewebes geringe Änderungen in der Sekretionsrate der Leydigzellen nicht nachzuweisen vermag.

Bei Fröschen und bei Säugetieren (Maus, Ratte, Pferd, Ziege) untersuchte man die Leydigzellen nach dem Vorkommen von sudanophilen Lipiden und von 'carbonylic lipids'. (Ashbel-Seligman positive Lipide) Frösche haben im Sommer wenig Ashbel-Seligman positive Lipide, die Sertolizellen färbten sich jedoch schwach. Sudanophile Lipide waren in beiden Zelltypen zugegen. Maus, Ratte, Pferd und Ziege zeigten sowohl in den Leydigzellen als auch in den Sertolizellen nach diesen Tests positive Reaktionen (8).

Ein Zusammenhang zwischen Hodenlipiden und der sexuellen Aktivität stellte sich beim Rotwild heraus. Zur Brunftzeit vergrößerten sich die Leydigzellen und sie enthalten viele sudanophile Tropfen. Im Juni zeigen die Zellen Regressionserscheinungen, die sudanophilen Lipide sind spärlich vorhanden (138).

Der Gehalt des Interstitiums an sudanophilen Lipiden soll auch mit der aufgenommenen Nahrungsmenge in Beziehung stehen. So fand man bei Bullen, die während der Aufzucht normal ernährt wurden, 30 % mehr sudanophile Lipide in den Leydigzellen als bei der Kontrollgruppe, die "getrieben" gefüttert wurde (113).

Die quantitative Aussagekraft einiger histochemischer Methoden konnte an Biopsieproben ausden Testes hypogonader Männer überprüft werden. Im gesamten Material fanden sich nur zwei Proben, in denen doppelbrechende Lipide enthalten waren. Die Schultz-Reaktion fiel bei allen Patienten mehr oder weniger positiv aus, außer bei einem praepuberal aufgetretenen hypergonadotropen Hypogonadismus. Nach der Färbung mit Sudan IV und Sudanschwarz trat keine klare Differenz in der Intensität der Färbung bei normalen und endokrin gestörten Hoden auf. Die Schiff-Plasmal-Reaktion fiel verschieden stark positiv aus (96).

Aus einem Teil der beschriebenen Beobachtungen geht hervor, daß die Anwesenheit von Lipiden in den interstitiellen Zellen mit der hormonalen Aktivität verknüpft sein kann. Quantitative Schlüsse sind aber nur schwer zu ziehen. Die Bedeutung der sudanophilen Lipide ist noch unklar.

2) Endokrinologie des Hodens

Zwei Hormone des Hypophysenvorderlappens (HVL) nehmen entscheidenden Einfluß auf die Entwicklung und die Aufrechterhaltung der endokrinen und exokrinen Funktion des Hodens:

a. Follikel stimulierendes Hormon (FSH - Follicle-stimulating hormone)

Dieses gonadotrope Hormon fördert beim weiblichen Individuum das Follikelwachstum bis zu einem praeovulatorischen Stadium (117). In der männlichen Keimdrüse jedoch steuert das FSH das Wachstum der Tubuli und die Spermatogenese entweder allein oder synergistisch mit dem ICSH (76, 80, 94, 119, 129). Diese Wirkungsweise des FSH auf den Hoden wird allgemein angenommen, wenn sie auch nicht so sicher wie am Ovar belegt werden kann. Es ist nämlich bekannt, daß auch substituiertes Testosteron allein bei hypophysektomierten Ratten für eine gewisse Zeit das Wachstum der Tubuli und die Spermatogenese weiterführen kann (136, 56). Die Leydig'schen Zwischenzellen bleiben von FSH unbeeinflußt (129). Erst bei sehr großen Dosen dieses Hormones konnte eine Wirkung auf das Interstitium beobachtet werden (119).

b. Interstitialzellen stimulierendes Hormon (ICSH = Interstitial cell-stimulating hormone)

Am Ovar reift unter der Steuerung des ICSH der Follikel aus; anschliessend stimuliert es die Bildung des Corpus luteum. Es wird daher auch luteinisierendes Hormon (LH) genannt. Im Hoden induziert ICSH die Entfaltung der interstitiellen Zellen und es hält die Sekretion von Androgenen aufrecht (76, 80, 117, 129). Daneben wird noch eine direkte Wirkung auf die Spermatogenese diskutiert (117, 118, 120).

Die Ausschüttung der genannten Gonadotropine überwacht der Hypothalamus der als Sitz des "Sexualzentrums" angesehen wird. Vor mehr als dreißig Jahren fand dieses Zentrum erstmals Erwähnung (57). Die erheblichen Funktionsstörungen, die sich an der Hypophyse nach der Zerstörung des Hypothalamus zeigten, bestätigen diese Beobachtung (28, 29). Die Ausfallserscheinungen an den Gonaden, die nach einer gezielten Beschädigung des Hypothalamus auftraten, ließen Rückschlüsse über die Lage der zugehörigen Kerngebiete zu. Dabei ergab sich auch, daß die Topographie der Kerne mit gleichen Aufgaben tierartlich verschieden ist. Z. B. wird die basale vordere Region des Hypothalamus für die Ovulation bei Meerschwein-

chen, Ratten und Hühnern verantwortlich gemacht. Andere Kerne regeln die FSH- und ICSH-Ausschüttung (6, 48). Das mediale Feld des Tuber cinereum am markarmen Teil des Hypothalamus überwacht die Hodenfunktion (50).

Das Sexualzentrum ist nicht autonom, es koordiniert Sinneseindrücke, die direkt (Licht) oder indirekt über die Cortex zu ihm gelangen mit Impulsen des vegetativen Nervensystems und der endokrinen Organe. Diese Informationen über die Gesamtlage des Organismus und seiner Umgebung (Alter, Ernährung, Jahreszeit, Klima) werden höchstwahrscheinlich in Form von neurosekretorischen Reizen (releaser factor) an die Hypophyse weitergegeben (49, 100, 111).

Außer dem Hypothalamus beeinflussen auch die Hormone der sekundär gesteuerten Drüsen die Hypophyse. Dieser Feed-back-Mechanismus wird so erklärt: Eine steigende Sekretion von Gonadotropinen wird mit einer verstärkten Synthese von Steroidhormonen beantwortet. Die Sexagene bremsen nun eine weitere Ausschüttung troper Hormone. Sinkt der Steroidspiegel unter ein bestimmtes Maß, wird ein neuer Sekretionsreiz auf die Hypophyse erzeugt (6, 52, 74, 90).

Da der Hypothalamus - wie dargelegt werden konnte - eine überragende Rolle in der Steuerung des Sexualgeschehens einnimmt, schreiben ihm manche Autoren auch im Rückkopplungsmechanismus die entscheidende Funktion zu (40), d. h. die Sexagene wirken direkt auf die entsprechenden Kerne ein, welche die Hypophyse zu einer vermehrten oder verminderten FSH- bzw. ICSH-Produktion veranlassen. Dieser hypothalamische Einfluß der Sexualhormone ist jedoch umstritten (20).

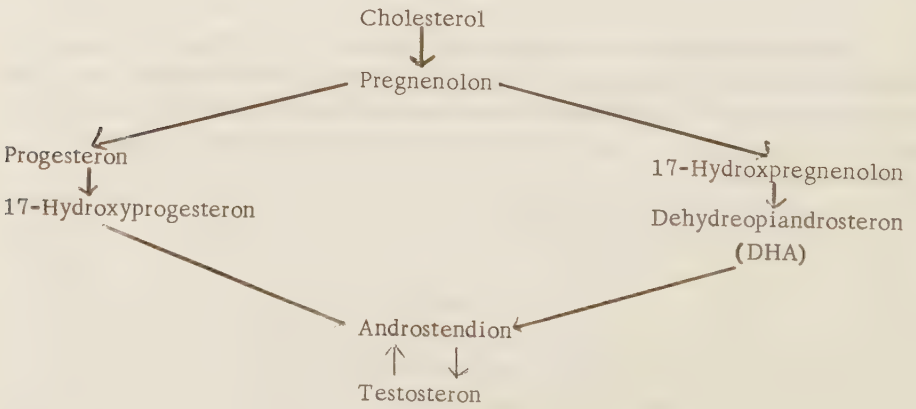
Nach diesem Schema kann man die Steuerung der Hodenfunktion unserer Haussäugetiere und des Menschen erklären. Es ist aber durchaus denkbar, daß es bei den einzelnen Arten Abweichungen von diesem Regulationsmechanismus gibt. Für den Stier konnte aus der Literatur dafür kein Anhaltspunkt gefunden werden.

a) Die Biosynthese der Androgene

Zur Biogenese der androgenen Hormone in den Leydigzellen dient aktives Azetat und Cholesterol als Ausgangsmaterial (31). Während Azetat in vivo und in vitro für die Steroidsynthese essentiell ist (47, 31), war Cholesterol in vivo unwirksam (31).

Aus "aktiver Essigsäure", dem Acetyl-CoA, entsteht über verschiedene Zwischenstufen das Cholesterol. Von diesem Substrat geht im wesentlichen der Aufbau aller Steroidhormone aus (66). Die oxydative Verkürzung einer Seitenkette am Cholesterol führt zum Pregnenolon. Dieser wichtige Schritt scheint von den gonadotropen Hormonen gesteuert zu werden (6). Aus dem Pregnenolon geht nach Dehydrierung als weiteres Reaktionsprodukt das Progesteron hervor. Die nächste Sequenz, das 17 - Hydroxyprogesteron, leitet zu den C 19 - Steroiden über, da von ihm ein 2 C - Fragment abgespalten wird. Diese Reaktion kann entweder oxydativ oder hydrolytisch vor sich gehen. Wird der zuerst genannte mögliche Weg beschritten, so erhalten wir Androstendion. Dieses wird zu Testosteron reduziert. Wird die Seitenkette hydrolytisch abgespalten, so kann aus dem gebildeten Testosteron durch eine anschließende Oxydation Androstendion gebildet werden (121).

Die genannten Sequenzen werden zur Biosynthese der Androgene hauptsächlich durchlaufen (linke Seite des Schemas). Es konnte aber mit der Entdekkung von Dehydroepiandrosteron (DHA) ein zweiter Weg aufgezeigt werden, der zu Testosteronbildung führt (rechte Seite des Schemas). Weitere Möglichkeiten werden vermutet (95).



Zur Androgensynthese sind Hoden, NNR und Ovar (116), gleichermaßen befähigt. Ihre Sekretionsprodukte unterscheiden sich durch verschiedene Enzymaktivität nur quantitativ, aber nicht qualitativ (6).

Im Metabolismus des Testosterons spielt die Leber die Hauptrolle (104). Der Hoden hat aber selbst eine bedeutende Kapazität, Testosteron zu metabolisieren (126).

In neuesten Untersuchungen spricht man neben den Leydigzellen, den Tubuli die Fähigkeit zur Androgensynthese zu. Es gelang, die Samenkanälchen von den interstitiellen Zellen zu trennen. Beide Gewebe wurden getrennt in Progesteron 4 - ^{14}C getaucht und die erzeugten Androgene analysiert. Dabei zeigte sich, daß beide Gewebe aus diesem Ausgangsmaterial Testosteron bilden konnten. Die interstitiellen Zellen erwiesen sich jedoch als aktiver und müssen daher als Hauptquelle für die Hodenandrogene angesehen werden (26). Andere Autoren gelangten zu ähnlichen Feststellungen (5, 63).

b) Die Wirkung der Androgene auf die Spermatogenese

Aus dem Urin gewonnenes männliches Geschlechtshormon ist in der Lage, die Spermatogenese bei hypophysektomierten Ratten aufrecht zu erhalten (136).

Hemmt man die Sekretion der Gonadotropine durch geringe Gaben von Testosteronproprionat (TP), so wird indirekt die Bildung der Germinativzellen unterdrückt. Verabreicht man aber große Dosen von TP, sistiert die Ausschüttung der gonadotropen Hormone des HVL ebenfalls, die Spermatogenese geht jedoch in vollem Umfang weiter. Dies wird durch den hohen Androgenspiegel erreicht, der direkt die Tubuli stimuliert. Das Hodengewicht verringert sich in diesem Falle nicht (89).

Aus dieser Beobachtung kann geschlossen werden, daß die Spermatogenese von der Steuerung durch die gonadotropen Hormone FSH und ICSH abhängt. Diese Hormone können aber durch Androgengaben, die eine hohe Konzentration im Hoden erreichen, ersetzt werden.

Diese zuletzt getroffene Feststellung, daß das Testosteron und nicht das FSH als entscheidender hormonaler Faktor bei der Spermatogenese anzusehen ist, geht aus einer weiteren Untersuchung hervor (56). An mit Östrogenen kastrierten Rattenmännchen wurde intratestikulär Testosteron verabreicht. Die Tiere erlangten daraufhin ihre Fertilität wieder (56).

Andere Mitteilungen betonen die fördernde Wirkung des Testosterons, die es auf Tubuli und Spermatogenese ausübt, zwar auch, jedoch konnte nur bei wenigen Tieren ein normaler Ablauf der Spermienbildung mit TP erzielt werden (18). Bei hypophysenlosen Ratten konnte nach TP-Zufuhr bei 33 % der Männchen eine qualitative aber keine quantitative Wiederherstellung der Spermatogenese erreicht werden. Die Verminderung der absoluten Zahl der Keimzellen hatte eine Abnahme des Hodengewichtes zur Folge. Nach langer Behandlungszeit mit TP kam bei einigen Tieren eine normale Spermatogenese in Gang (18). In einer anderen experimentellen Arbeit erhielten hypophysektomierte Ratten täglich 3 mg TP s. c. injiziert. Diese Behandlung begann am 70. Tag p. o. und dauerte 90 bis 110 Tage. Bei der anschließend durchgeführten quantitativen Analyse der Spermatogenese fand man in den verschiedensten Phasen weniger A- und B-Spermatogonien sowie primäre Spermatozyten. Verabreichte man zusammen mit TP das somatotrope Hormon, so verbesserte sich die Spermatogenese (19).

Bei Männern mit Oligospermie und Asthenospermie regte die Behandlung mit HCG, PMS und Testosteron die Spermatogenese in verstärktem Umfang an(87).

Diese Untersuchungen zeigen, daß die Bildung von Germinativzellen nicht nur auf die Wirkung eines Hormones zurückgeführt werden kann, es ist vielmehr ein Prozeß,der durch mehrere Hormone induziert wird (129).

B) Fortpflanzungsstörungen beim Stier

1) Einteilung der männlichen Sterilität

Wie oft in der klinischen Diagnostik und Nomenklatur der Veterinärmedizin, werden auch auf diesem Gebiet Überleitungen zur Humanmedizin gefunden. Dort schenkte man lange Zeit der männlichen Unfruchtbarkeit wenig Beachtung. Bis zum Beginn des 20. Jahrhunderts suchte man die Ursache einer sterilen Ehe fast ausschließlich bei der Frau. Obwohl in der Tierzucht durch die Herdenhaltung Fruchtbarkeitsstörungen der Vatertiere schon lange bekannt waren, wurden daraus für den Menschen nicht die notwendigen Konsequenzen gezogen. Erst mit der Erweiterung und Verbesserung der Untersuchungsmethoden, wie der Spermagewinnung,-beurteilung und -konservierung, der Hodenbiopsie, sowie der Möglichkeit, die gonadotropen Hormone des HVL, die Androgene und ihre Metaboliten quantitativ zu bestimmen, stellte man fest, daß auch beim Mann Fertilitätsstörungen häufig vorkommen (96). Von größter Bedeutung ist der Hypogonadismus, der seine Ursache in einer primären Erkrankung der Testes, aber auch in einem Versagen der übergeordneten Zentren (Hypothalamus, Hypophyse) oder in einem Ausfall eines anderen Organes (Schilddrüse) haben kann. Der Hodenschaden kann prae-, intra- und postpuberal auftreten. Der Beginn der Erkrankung ist mitbestimmend für die extragonadale Auswirkung (96).

Nach den aufgeführten Gesichtspunkten und den diagnostischen Möglichkeiten unterscheidet man beim Menschen eine primäre und sekundäre Hodeninsuffizienz (96, 129). Beim primären Hypogonadismus sezerniert der HVL vermehrt seine tropen Hormone. Der Hoden ist jedoch nicht in der Lage, auf diese Stimulierung mit der Produktion von Spermien oder Androgenen zu antworten (hypergonadotroper Hypogonadismus). Bei der sekundären Hodeninsuffizienz ist zwar der Hoden funktionsbereit, jedoch fehlt der Anstoß durch die Gonadotropine. Bei der chemischen Analyse des Urins findet man den Spiegel dieser Hormone stark vermindert. In diesem Falle spricht man vom hypogonadotropen Hypogonadismus, der meist zur Zeit der Pubertät oder später in Erscheinung tritt.

Diese Einteilung kann zwar grundsätzlich in der Veterinärmedizin auch benutzt werden. In praxi ist aber die Bestimmung der Hormonausscheidung noch nicht möglich. Darüber hinaus ist die Hodenbiopsie beim Bullen ein Eingriff, der mit nicht tragbaren Folgen für die Spermatogenese verbunden ist (81). Während man in der Humanmedizin es als einen Erfolg ansieht, wenn auch erst nach langjähriger Behandlung die Zeugungsfähigkeit wieder erlangt wird, ist in der Tiermedizin die Fruchtbarkeit ein Leistungsmerkmal mit erheblicher wirtschaftlicher

Bedeutung, so daß auch vorübergehende Beeinträchtigungen durch diagnostische Maßnahmen vermieden werden müssen. Jedoch kann die Beurteilung des Sperm auf viel breiterer Basis erfolgen. Weiterhin ist auch eine Beobachtung und Beurteilung der Begattungsreflexe möglich. Die Diagnose wird beim Tier daher fast ausschließlich nach dem klinischen Befund an den Geschlechtsorganen, dem Ablauf der Paarungsreflexe und dem Ergebnis der Spermauntersuchung gestellt.

Von der beim Menschen üblichen Einteilung der Fruchtbarkeitsstörungen beim Mann muß in der Tiermedizin auch noch aus anderen Gründen abgewichen werden. So sind z. B. bestimmte Formen der Hodeninsuffizienz, wie der primär praepuberale Hypogonadismus ohne große Bedeutung, da Tiere mit solchen Störungen sofort ausgemerzt werden.

Den praktischen Belangen der Tiermedizin und Tierzucht Rechnung tragend, teilt Schaetz (112) die Störungen der männlichen Fruchtbarkeit wie folgt ein:

1.) Deckunlust (Anaphrodisie)

2.) Begattungsunfähigkeit (Impotentia coeundi)
Bei bestehender Decklust kann der Begattungsakt nicht oder nur unvollständig ausgeführt werden.

3.) Zeugungsunfähigkeit (Impotentia generandi)
Der Deckakt ist möglich, doch kommt es nicht zur Befruchtung.
Hierher gehören alle schweren Formen der Spermatogenesestörung.

Diese Klassifizierung nach klinischen Begriffen hat zur Folge, daß ätiologisch grundsätzlich verschiedene Krankheitsbilder zusammengefaßt werden. So kann beispielsweise die Impotentia coeundi sowohl auf hormonale Dysfunktionen als auch auf Schäden an den Gelenken oder auf anderweitige allgemeine Krankheitszustände zurückgeführt werden.

Abschließend sei noch gesagt, daß auch die Potentia coeundi et generandi in der Veterinärmedizin keine große Bedeutung haben, da man aus erbhygienischen Gründen nie anstrebt, von diesen Tieren durch therapeutische Maßnahmen Nachkommen zu erhalten. Die größte Beachtung muß den subfertilen Tieren geschenkt werden. Eine exakte Definition für die beeinträchtigte Fruchtbarkeit ist jedoch schwer zu geben, da es sich um kontinuierliche Übergänge von Physiologischen zum Pathologischen handelt. Die Beurteilung ist in weitem Maße vom Standpunkt des Betrachters abhängig.

2) Die Libido sexualis und ihre Storungen

Die Geschlechtsreife wird bei unseren Rassen mit einem Alter von 6 bis 10 Monaten (46) bzw. 8 bis 12 Monaten (112) erlangt. Nach Baker et al (13) zeigen Jungbullen aber bereits vor der Pubertat sexuelles Interesse.

Diese frühe Regung des Geschlechtstriebes bei einem Durchschnittsalter von ca. 29 Wochen (13) kann jedoch nicht zu einer fruchtbaren Bedeckung führen, da der regelrechte Ablauf der Reflexkette (Vorspiel, Erektion, Aufsprung, Suchbewegung und Einführung des Penis, Nachstoß und Ejakulation) nach dem Aufsprung unterbrochen ist. Eine Emissio penis ist zu diesem Zeitpunkt noch unmöglich. Erst etwa 10 Wochen später konnten Ejakulate gewonnen werden (13).

Mit dem ersten Auftreten der Libido sexualis fällt eine nennenswerte Testosteronproduktion zusammen. Während im postnatalen Hoden das Verhältnis von Androstendion zu Testosteron 1:1 beträgt, verschiebt sich das Verhältnis zwischen dem 4. und 6. Monat rasch zu Gunsten des Testosterons (83).

Diese Beobachtung führt zu der naheliegenden Schlußfolgerung, daß die biologische Aktivität des Testosterons für die Libido sexualis mit verantwortlich ist (14, 46, 80).

Eine Hemmung der Wirkung der androgenen Hormone durch Sexagene oder die Kastration führt in der Regel zur sexuellen Ruhigstellung (103).

Im Gegensatz hierzu steigerte die Verabreichung von Testosteronpropionat bei Kaninchen die Geschlechtslust. Diese vermehrte Libido wurde an der verkürzten Reaktionszeit gemessen (25).

Bei klinischen Störungen tritt diese Beziehung zwischen Testosteron und Libido nicht immer so klar hervor. So bestand bei Männern mit einem eindeutig endokrinen Hodenschaden keine Korrelation zum Geschlechtstrieb (86).

Interessant ist in diesem Zusammenhang auch ein Versuch mit 12 im Alter von 4 Monaten, also vor der Pubertät, kastrierten Bullenkalbern. Diese Tiere brachte man von ihrem 7. Lebensmonat an mit Kühen zusammen. Dabei konnte bei 9 Ochsen ein kopulationsähnliches Verhalten beobachtet werden. Eine Erektion kam nicht zustande, da die Glans penis mit dem Praeputium verwachsen blieb (41).

Trotz dieser Beobachtung darf jedoch die Wichtigkeit des Testosterons für ein normales Geschlechtsverhalten nicht in Zweifel gezogen werden. Die Wirkung des androgenen Hormones wird darin gesehen, daß es übergeordnete Nervenzentren in einen höheren Spannungszustand versetzt (46). Aus dem Zusammenwirken eines funktionsfähigen endokrinen und nervösen Systems bildet sich im Organismus eine Reaktionslage, die adaequate Reize mit dem Trieb zur Begattung beantwortet (79).

Die Libido sexualis ist überwiegend erblich bedingt. Von gewissen Schwankungen abgesehen, bleibt die Geschlechtslust das ganze Leben über ungefähr gleich (132, 133).

Entsprechend seiner Ursache wird man bei fehlendem oder mangelhaftem Geschlechtstrieb die Labilität am Endokrinum oder Nervensystem suchen, falls keine anderen Ursachen, z. B. schmerzhafte Zustände, den Ablauf der Begattungsreflexe beeinträchtigen.

Bestenfalls wird man aber nur eine Ausschlußdiagnose stellen können, da diese Organe einer direkten Untersuchung nur schwer zugänglich sind. Zwar ist der Begattungsreflex beim Tier als Beantwortung äußerer Reize zu erfassen, jedoch fehlen uns weitere Kriterien, die die Diagnose bei einer endokrinen bedingten Libidoschwäche erhärten. Die Testosteronsekretion und der Fruktosegehalt weisen außerordentlich große Schwankungen auf. Bei geschlechtsreifen Bullen ermittelte man zwischen 19 und 437 µg Testosteron in 100 g Hoden (83). Bis heute wurde noch nicht der Versuch unternommen, die Grenze zum Pathologischen zu ermitteln.

Das klinische Bild der Anaphrodisie kann seine Ursachen auch in vielen anderen Faktoren haben, die allerdings sekundär die Hypophyse beeinflussen können.

Von großer Wichtigkeit für die Entwicklung und Erhaltung einer normalen Geschlechtslust scheint eine ausreichende Fütterung zu sein. Ein ungeeignet zusammengesetztes Futter oder das Fehlen essentieller Aminosäuren oder Vitamine (A, D, C, E) soll die Libido erheblich senken, noch bevor Auswirkungen auf die Spermatogenese bemerkt werden (86, 134). Die Ursache dafür sieht man in einer verminderten Sekretion hypophysärer Hormone (86).

Es ist bekannt, daß eine kurzdauernde, erhöhte Nahrungszufuhr den Geschlechtstrieb stimuliert (14); eine anhaltende Überfütterung hat jedoch das Gegenteil zur Folge (27)

Von wesentlichem Einfluß auf die Libido ist die geschlechtliche Beanspruchung (110). So fanden einige Autoren, daß bei dreimaliger Samengewinnung in der Woche die Geschlechtslust nachläßt (13). Van Demark et al. (135) gewannen vier Jahre lang bei einem Bullen 3 mal wöchentlich Samen. Die Libido verminderte sich in den letzten zwei Jahren der Versuchszeit; diese Beobachtung konnte jedoch nicht eindeutig mit der geschlechtlichen Beanspruchung in Zusammenhang gebracht werden. Zudem braucht eine Aussage, die sich nur auf ein Versuchstier stützt, nicht allgemein gültig zu sein.

Starke physische Schmerzen, die durch Erkrankungen der Klauen, der Gelenke, der Muskulatur, der Vormägen u. a. auftreten, können die Triebäusserung der Libido sexualis verhindern. Die Empfindlichkeit ist jedoch individuell verschieden (14, 134). Bei Bullen, die bereits etwas zur Deckfaulheit neigen, können sich Stall, Zahn- und Haarwechsel oder starke Hitze verschlechternd auswirken (134).

Ein großer Teil der Libidostörungen läßt sich auf psychische Ursachen zurückführen (43, 134). Häufig trifft man Jungbullen, die nach der Auktion in fremder Umgebung den Deckakt verweigern, ohne daß man gleich von Libidomangel sprechen darf. In 86 Fällen dieser Art konnten 61 Tiere "angelernt" werden. Sie verloren ihre Hemmungen dauernd oder zeitweilig und deckten befriedigend (134).

Angstzustände, Abneigung vor fremden Personen, Kontaktschwierigkeiten mit dem Pfleger, sind ebenfalls häufige Ursachen für die fehlende Geschlechtslust (43, 134).

Bei Bullen, die zunächst normales Geschlechtsverhalten zeigen und dann ohne pathologisch-anatomisch oder klinisch erkennbare Ursachen ganz versagen, wird dies einmal als erworbene Impotentia coeundi oder biologische Sterilität (108), im anderen Fall als eine psychische Impotenz - ähnlich der des Menschen - aufgefaßt (68).

Sehr wichtig wäre die Klärung der Frage, ob derartige Störungen auch vererbt werden und zwar nicht nur vom Vater auf den Sohn, sondern auch auf die weiblichen Nachkommen. Zur Zeit wird diskutiert, ob Bullen mit mangelnder Libido die Disposition für Eierstockszysten vererben (2, 131).

3) Die Störung der Spermatogenese

Aus Veröffentlichungen über die Abgangsursachen von Bullen ist zu entnehmen, daß ein hoher Prozentsatz der Vatertiere wegen erworbener Impotentia generandi aus dem Deck- und Besamungsgeschehen ausscheidet (92, 122).

Abshagen et. al. (1) untersuchte 625 Stiere, die im Deckbetrieb standen. Davon mußten 24, 6 % wegen ungenügender Befruchtung abgegeben werden. Unter 398 beanstandeten Zuchtbullen fand Ehrlich (32) 264 (66 %) mit Fortpflanzungsstörungen. Bei 57 Tieren blieb die Ursache der fehlerhaften Spermatogenese unklar.

Die Ätiologie der erworbenen Hodeninsuffizienzen, die mit einer erheblichen Storung der Spermatogenese einhergehen, ist oft nicht zu klären. Pathologisch-anatomisch herrschen jedoch zwei Zustandsbilder des Hodens vor: Die Hodendegeneration und die Hodenentzündung. Beide können zu einer Fibrose führen (137).

Die Ursache der Hodendegeneration kann in den verschiedensten exogenen und endogenen Faktoren gesucht werden. Nach plötzlichem Futterwechsel oder nach der Verabreichung minderwertiger Rationen sowie bei übermäßiger Ernahrung zeigten sich erhebliche Schwankungen in der Spermaqualität (3, 7, 22).

Nach Wollrab (139) soll auch eine geschlechtliche Überforderung nicht ohne Auswirkung auf die generative Funktion des Hodens bleiben. Auf welche Weise allerdings die Beeintrachtigung der Spermatogenese zustande kommen soll, wird nicht beschrieben.

Schwere Allgemeinerkrankungen können sich auf das Endokrinum oder direkt auf den Hoden auswirken und so die Degeneration des Samenepithels bewirken (139).

Versetzt man männliche Zuchtrinder in ein anderes Milieu, so beobachtet man häufig tiefgreifende Storungen in der Spermatogenese (10, 61, 67). Man führt diesen Befund auf die Stresssituation zurück, in der sich das Tier befindet. Die vermehrte Ausschuttung von ACTH hemmt die Abgabe der tropen Hormone des HVL und die Bildung von Sexagenen (61). Nach einer Akklimatisationszeit von 2 bis 3 Monaten kehrt das Spermabild gewöhnlich zur Norm zurück (61).

Die Entzündung der Hoden ist meist infektiös bedingt, traumatische Ursachen spielen eine untergeordnete Rolle. Am häufigsten werden bei Orchitiden Tuberkelbakterien, Brucellen und das Corynebacterium pyogenes gefunden. In letzterer Zeit konnte man auch Viren nachweisen (139).

C) Zellfunktion und Kerngröße bei endokrinen Organen

Die Beurteilung der Funktion des inkretorischen Hodenanteils kann nach zwei unterschiedlichen Verfahren erfolgen.

Mit den ersten älteren Methoden versucht man die Androgene aufgrund ihrer Wirkung auf verschiedene Organe (maskuline Entwicklung, Achselhaarwuchs, Kapaunenkamm-Wachstumstest, Fruktosetest u. a.) nachzuweisen. Andere Verfahren messen chemisch-analytisch die Hormone oder ihre Abbauprodukte (Gonadotrophinausscheidung, 17-Ketosteroidbestimmung, Darstellung von Testosteron in Blut und Urin u. a.) (77, 82, 86, 102, 129, 137).

Die zur Funktionsermittlung der Leydigschen Zwischenzellen getroffene Einteilung der Methoden in biologische und chemische Teste kann mit gewissen Einschränkungen auf jedes andere hormonproduzierende Organ übertragen werden. Alle diese Untersuchungen sind mit einem erheblichen Zeitaufwand verbunden und setzen technisch gut ausgerüstete Laboratorien voraus (37). Daneben suchte man an der Zelle selbst nach morphologischen Kriterien, die mit der sekretorischen Arbeit in Zusammenhang gebracht werden können. Lichtmikroskopisch steht dabei die Größe des Zellkerns im Mittelpunkt der Betrachtungen, da mit vielen Reagentien und Farbstoffen ("Kernfarbstoffe") seine Grenzen deutlich darzustellen sind. Für die quantitative Zellkernmessung ist das eine wichtige Bedingung.

Die Bevorzugung des Kernes gegenüber dem Zytoplasma scheint auch aus biochemischer Sicht gerechtfertigt zu sein, seit man weiß, daß alle Stoffwechselreaktionen der Zelle durch die im Kern lokalisierte Desoxyribonucleinsäure (DNS) gesteuert werden. Die Informationsübermittlung an die organoiden Strukturen des Zellplasmas, die zur Katalyse von genabhängigen Produkten wie Hormonen und Proteinen befähigt sind, erfolgt mit Hilfe einer "messenger"-RNS (Ribonucleinsäure) (66).

Bereits um die Jahrhundertwende erkannte man die Beziehung zwischen der Kerngröße und dem Funktionszustand bei Drüsengewebe (44). Diese Erkenntnis fand in weiteren Arbeiten ihren Niederschlag und führte schließlich zum Begriff der funktionellen Kernschwellung, die als Indikator für die Zelltätigkeit angesehen wird (16). Nach dieser Auffassung bedingen der Gehalt an Kernwasser und die Chromosomenzahl unterschiedliche Kerngrößen. Alfert et al. (4) machen nicht verschiedene Polyploidiegrade oder Schwankungen des Kernwassergehaltes für das Volumen verantwortlich, sondern ausschließlich den Gehalt an nicht-basischen Eiweißstoffen.

Der Einfluß von Rasse, Tageszeit, Ernährungszustand, Entwicklungsgrad, Geschlecht, Brunst und Narkotika ist für die Kerngröße von Bedeutung (16, 34, 69, 72, 73, 75, 115).

Bei der Vorbereitung der Präparate zur karyometrischen Auswertung muß der Zusammensetzung des Fixierungsmittels und des Intermediums große Beachtung geschenkt werden, da durch diese Flüssigkeiten Unterschiede in der Kerngröße nivelliert werden können (71). Die Ansichten, welche Fixationslösungen sich am besten eignen, sind jedoch geteilt. Nach "Bouin" und "Zenker" fixierte Erythrozyten wiesen eine Schlußdifferenz auf, die der im Leben wirklich vorhandenen Differenz am nächsten kam. Als Intermedium kam Methylbenzoat-Benzol zur Anwendung. Formol und andere im gleichen Versuch geprüfte Gemische verwischten bestehende Unterschiede so stark, daß eine funktionelle Kernschwellung, wie sie in vivo bestand, nicht mehr nachgewiesen werden konnte. (35)

Nach einer anderen Meinung führen die Fixationsmittel Formol (8 %), "Susa" und "Carnoy" zu keiner Angleichung der Kerngrößen (61). Die Verwendung von Osmiumtetroxyd ergab in der Auswertung eine Vielzahl von Kerngrössenklassen; diese starke Streuung wird als Zeichen dafür angesehen, daß ungleiche Kerngrößen, wie sie ursprünglich vorhanden waren, erhalten bleiben. Mit "Bouin" behandelte Gewebeteile zeigten eine erhebliche geringere Streuung in der Kerngröße (39).

An der Schilddrüse konnte nachgewiesen werden, daß eine Vorbehandlung mit chemischen Fixierungsgemischen immer einen starken Ausgleich der Kernvolumina zur Folge hat. Die besten Ergebnisse waren in diesem Vergleich mit der Gefriertrocknung zu erzielen (69, 97). Einig ist man sich jedoch, daß bei jeder Fixierungsart die kleinen Kerne weniger beeinflußt werden als die grossen (16, 39).

Die meisten Untersucher, die einen Zusammenhang zwischen Kerngröße und Zellfunktion aufzeigten, fixierten ihr Material in Bouin'scher Mischung. So konnte an den Ganglienzellen der Nuclei supraoptici und paraventriculares bei länger dürstenden Versuchstieren (34, 70) oder nach einer experimentellen Störung des Elektrolythaushaltes (33) eine bedeutende funktionelle Kernschwellung gemessen werden. Diese kam durch die vermehrte Ausscheidung des Hormones zustande, welches die Diurese hemmt.

Nach ähnlichen Stressituationen fand man an den Zellkernen der Nebennierenrinde (NNR), die mit dem Hypophysenhinterlappen (HHL) in enger funktio-

neller Beziehung steht, morphologisch erfaßbare Kerngrößenänderungen (33, 9). Die Verabreichung von Sexualhormonen (45, 36) und von Antibiotika (125) bedingten eine Vergrößerung der Kernvolumina.

Bei Ratten, die nur 15 Minuten großer Kälte ausgesetzt waren, führte die kurz dauernde Noxe schon zu einer Progression der Zellkerne der Thyreoidea. Ausserdem stellte sich nach der Substitution des thyreotropen Hormones (TSH) eine brauchbare Korrelation zwischen der gegebenen Dosis und der Kerngröße heraus (69). Geringe Mengen von TSH (0,00001 "JS Einheiten") erzeugten meßbare Kernveränderungen (127).

Die Größe der Zellkerne des endokrinen Teils der Gonaden und damit die Aktivität dieser Organe hängt eng vom Blutspiegel der Gonadotropine ab. Nach Hypophysektomie verkleinern sich die Leydigzellen bis auf die Hälfte ihrer normalen Größe (93, 130). Eine ähnliche, aber schwächere Regression der interstitiellen Zellen beobachtet man auch unter der Einwirkung von Sexagenen (36, 74). Mit Choriongonadotropingaben kann man das Zellvolumen bei hypophysektomierten Tieren wieder vergrößern und die Androgensekretion kommt erneut in Gang (93).

Bei allen Zellkernmessungen an endokrinen Organen, die einer hypophysären Steuerung unterliegen, wie NNR, Ovar, Schilddrüse und Hoden, glaubt man, daß die inkretorische Leistung dieser Drüsen nicht erfaßt wird, sondern in erster Linie die Aktivität der tropen Hormone des HVL (71, 89, 130). Da aber die endokrine Leistung dieser sekundär beeinflußten Organe eng mit der Ausschüttung der Hormone des HVL verknüpft ist, wird man an Hand des Kernvolumens auch über ihre Funktion eine Aussage erhalten.

In dieser großen Anzahl von Beobachtungen wird die Beziehung zwischen Kerngröße und Funktion bestätigt. Sogar dem Nucleolus wird eine enge, an der Größe ablesbare Verbindung zum Zellstoffwechsel zugeschrieben (23).

Abschließend ist zu bedenken, daß bei allen beschriebenen Versuchen starke Noxen (Hypophysektomie, Hormongaben, große Kälte und lang dauernder Wasserentzug) eine meßbare Morphokinese des Nucleus hervorriefen. Diese anatomische Veränderung des Kernes kann mit der Karyometrie erfaßt werden, nicht aber ihre materielle, chemische Grundlage. Da jedoch nicht jede biochemische Störung anatomisch ihren Ausdruck findet, sind dieser Methode enge Grenzen gesetzt.

Die elektronenmikroskopische Untersuchung von Biopsieproben aus dem menschlichen Hoden bewies die enge Verknüpfung der Mitochondrien und des en-

doplasmatischen Reticulums mit der Funktion der Leydigzelle. Diese Strukturen können gut definierbaren pathologischen Veränderungen unterworfen sein. Der Kern fand in dieser histozytologischen Arbeit keine Beachtung (51).

III. EIGENE UNTERSUCHUNGEN

1) Material

Das Hauptanliegen dieser Arbeit ist es, eine Methode zu erarbeiten, die es ermöglicht, endokrine Hodenschäden bei Bullen aufgrund von morphologischen Kriterien an den Leydigzellen zu diagnostizieren. Zu diesem Zweck wurden die Hoden von fünf Kälbern (6 bis 8 Wochen), fünf Jungbullen (12 bis 15 Monate) und fünf Altstieren (2 bis 5 Jahre) zur Ermittlung von Vergleichswerten quantitativ histologisch ausgewertet (Tab. 1). Weiterhin wurden 24 Testes von männlichen Zuchtrindern untersucht, die aufgrund verschiedener Fertilitätsstörungen aus dem Deck- und Besamungsbetrieb ausschieden (Tab. 2).

Außerdem konnte auf die Hodenpräparate von vier Jungbullen, die etwa 10 Monate alt waren, zurückgegriffen werden. Zwei Tiere erhielten innerhalb von 4 Monaten 4 x 1 g Testosteronönanthat i. m.. Etwa 5 1/2 Monate nach der ersten Injektion erfolgte die Schlachtung. Die beiden anderen Tiere dienten zur Kontrolle der Ergebnisse (65) (Tab. 3).

Tabelle 1: Zahl der Tiere in den Altersgruppen und Art der Fixierung des Materials zur Ermittlung von Normalwerten

Gruppen- und Präparatnummer	Bezeichnung	Alter	Hodenprobe fixiert in
I, 1 - 5	Altstiere	2 - 5 Jahre	Bouin Formalin
II, 6 - 10	Jungstiere	10 - 15 Monate	Bouin Formalin
III, 11 - 15	Kälber	6 - 8 Wochen	Bouin Formalin

Tabelle 2: Abgangsursachen, Alter und Zahl der Bullen mit Fertilitätsstörungen

Gruppen- und Präparatnummer	Art der Abgangsursache	Alter	Zahl der Fälle
IV, 16 - 22	Nekro-, Oligo-, Azoospermie ohne klinisch nachweisbare Veränderungen	15 Monate -5 Jahre	7
V, 23 - 29	Gestörte Spermatogenese mit klinisch feststellbaren Veränderungen	15 Monate -4 Jahre	7
VI, 30 - 35	Libidomangel, Libidoschwäche	15 Monate -5 Jahre	6
VII, 36 - 39	Störungen im Ablauf der Begattungsreflexe	2 - 4 Jahre	4

Tabelle 3: Alter und Zahl der Kontrolltiere bzw. der mit Testosteronönanthat behandelten Jungbullen

Gruppen- und Präparatnummer	Bezeichnung	Alter	Zahl der Fälle
VIII 40, 41	Kontrolle	10 Monate	2
42, 43	Testosteronönanthat 4 x 1 g i. m.	10 Monate	2

2) Einteilung des Materials

Das gesamte Material wurde in 8 Gruppen eingeteilt. Die Gruppen I (Altstiere), II (Jungbullen) und III (Kälber) dienten zur Ermittlung von Durchschnittswerten für die Anteile der Tubuli, der Leydigzellen, des Bindegewebes und für die "Flächengröße der Leydigzellkerne". Diese Werte wurden auch als Vergleichs- oder Kontrollwerte für die folgenden Gruppen (IV - VII) herangezogen.

Nach dem klinischen Vorbericht konnten 7 Bullen in die Gruppe mit Spermatogenesestörungen ohne makroskopisch nachweisbare Veränderungen an den Geschlechtsorganen eingeordnet werden (Gruppe IV). Die Gruppe Bullen mit gestörter Spermatogenese aufgrund klinisch feststellbarer Ursachen (Hodenentzündung, Fibrose, Atrophie) umfaßte 7 Stiere (Gruppe V). 6 Bullen mit mangelnder oder fehlender Libido wurden der Gruppe VI zugeteilt. In der Gruppe VII finden sich 4 Tiere mit Störungen im Ablauf der Begattungsreflexe (fehlende Imissio intra vaginam, kein Nachstoß) (Tab. 2).

Die Gruppe VIII bestand aus vier gesunden, normal entwickelten Jungstieren. Zwei Tiere waren mit Testosteronönanthat behandelt worden (Tab. 3). Für diese Gruppe lagen bereits die Ergebnisse einer quantitativen Kernmessung für die Leydigzellen vor (65).

3) Herstellung der Präparate

Der rechte Hoden von fünf gesunden Kälbern, fünf Alt- und fünf Jungbullen, die zur Schlachtung kamen, wurde durch einen Schnitt am Margo liber auf das Rete testis gespalten. Aus der Mitte jeder Hälfte erfolgte die Entnahme nes ca. 0,5 cm starken Gewebsstückchens; je eine der noch lebenswarmen Prob wurde in Formalin 1 : 4, die andere in Bouinscher Mischung fixiert.

Ergab die anschließende Palpation und die visuelle Untersuchung des in Scheiben geschnittenen Hoden keine nachweisbaren Veränderungen, so wurde di oben beschriebene Probe als repräsentativ für beide Hoden angesehen.

In gleicher Weise erfolgte die Gewinnung aller anderen Präparate, jedoc fand bei diesen zur Fixierung nur die Bouinsche Mischung Verwendung.

a) Gefrierschnitt

Nach einer Fixationszeit von etwa zwei Tagen in Formol 1 : 4 wurden die Gewebsstückchen bis zur Weiterverarbeitung in eine Formalinlösung 1 : 10 eingelegt. Aus dieser Flüssigkeit kamen sie für 12 Stunden unter fließendes Leitungswasser zum Auswaschen, anschliessend für jeweils 12 Stunden in 12,5%ige bzw. 25%ige Gelatinelösung (109).

Nachdem die Gelatinelösung erstarrt war, wurden die Blöcke mit CO_2-Schnee gefroren und 10 µ dicke Gefrierschnitte hergestellt. Die auf den Objektträger aufgezogenen Präparate kamen für 30 Minuten in eine heiß gesättigte Sudanschwarz-B-Lösung (0,25 g auf 100 ml 75%igen Alkohol) (109, 114).

Die gefärbten Präparate wurden mit 50%igem Alkohol abgespült und mit Glyceringelatine eingedeckt.

Nachdem die Präparate zwei Tage an der Luft trockneten, erfolgte die Auswertung.

b) Paraffinschnitte

Von sämtlichen in "Bouin" fixierten Gewebeproben wurden Paraffinschnitte nach der üblichen histologischen Methode hergestellt. Die

Färbung erfolgte nach der von Boguth, Langendorff und Tonutti (31) beschriebenen Technik und nach den von Kronthaler (74) und Plate (102) angegebenen Färbezeiten.

4) Histometrische Technik

Zur quantitativen histometrischen Erfassung des Hodenparenchyms wurde die von Hennig (53, 54) vorgeschlagene Meßtechnik sowie das dazu entwikkelte Integrationsokular I der Firma Carl Zeiss herangezogen.

In zwei getrennten Arbeitsgängen erfolgte die Bestimmung der Fläche der Leydigzellkerne und der prozentualen Anteile von Germinativum, Leydigzellen und Bindegewebe.

a) Bestimmung der Flächengröße der Leydigzellkerne

Zur Bestimmung der durchschnittlichen Flächengröße von Leydigzellkernen und -anschnitten wurden die Paraffinschnitte mit einem Mikroprojektionsapparat (Leitz) auf weißen Zeichenkarton projiziert. Auf das Papier waren 100 Punkte, die alle den gleichen Abstand (a = 1,5 cm) voneinander hatten, aufgetragen. Die Punkte umschlossen einen Kreis mit r = 7,88 cm. Punkte, die in einer Reihe lagen, waren durch Linien verbunden, um den Zählvorgang zu erleichtern (Abb. 2).

Der Radius des projizierten Bildes war mit r = 16 cm doppelt so groß wie derjenige der Auswertungsschablone; diese wurde kleiner gehalten, um eine Beeinflussung der Meßergebnisse durch weiter vom Mittelpunkt entfernt liegende und daher verzerrte Flächen auszuschalten.

Jedem Testpunkt kommt unter den vorgegebenen Bedingungen eine gleichgroße Fläche zu, die durch den Netzwert $N = a^2 \cdot \frac{\sqrt{3}}{2}$ ausgedrückt wird. Alle 100 Punkte liegen innerhalb eines Kreises, dessen Fläche gleich 100 N ist.

Führt man nun für die projizierten Leydigzellkerne, die innerhalb des Kreises liegen, eine Treffer (t)- und eine Flächenzählung (p) durch, so erhält man aus dem Quotienten t : p, multipliziert mit dem Netzwert N, aus großen Serien den durchschnittlichen Flächenwert des betreffenden Bestandteiles:

$$F_m = N \cdot \frac{\Sigma t}{\Sigma p}$$

Als Treffer (t) wurden die Punkte der Strich-Punkte-Figur gezählt, die in das Abbild eines Leydigzellkernes oder -anschnittes fielen.

Die Leydigzellkerne und -anschnitte, welche innerhalb des Kreises lagen, wurden als Flächen (p) gezählt.

Kerne, die der Kreisrand schnitt, wurden gesondert erfaßt und deren halbierte Summe zu den Flächen innerhalb des Kreises hinzugefügt. Zu diesem Zweck wurde die Markierung am Kreisrand angebracht und dann von dieser Stelle aus im Uhrzeigersinn gezählt (Abb. 2).

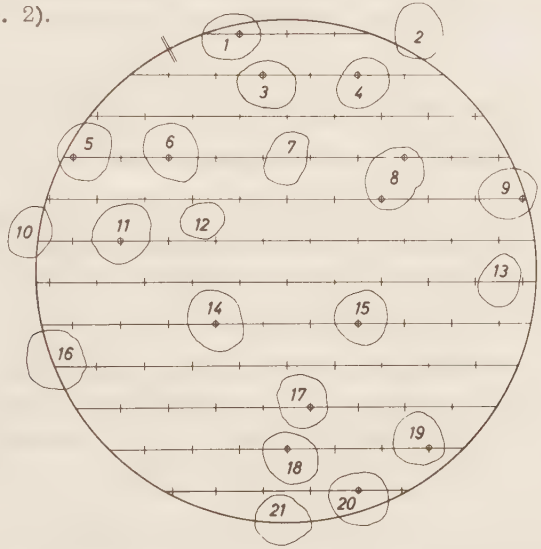


Abb. 2: Beispiel zum Zählvorgang

$(t = 15,\ p = 21) \quad F_m = \frac{15}{21} \cdot a^2 \cdot \frac{\sqrt{3}}{2}$

Die Flächen Nr. 1, 2, 5, 9, 10, 16, 20, 21 werden nur zur Hälfte gezählt.

Im einzelnen erfolgte die Messung in folgender Weise:

Mit Ölimmersion (Objektiv 100, Okular 10 x) und durch Verstellen des Projektionsspiegels wurden die Zellkerne 2 300-fach vergrößert. Mit einem Objektmikrometer konnte die Vergrößerung überprüft werden. Gleichzeitig wurde auch kontrolliert, ob die Abbildungsebene parallell zur Objektebene lag.

Die Auswertung eines Präparates begann am Rande; der histologische Schnitt wurde dann mit dem Kreuztisch in Mäanderlinien unter dem Objektiv verschoben,

bis jeweils der Zählkreis zufällig ein oder mehrmals in den interstitiellen Raum paßte.

Grundsätzlich wurden von jedem Präparat 50 Blickfelder ausgewertet und eine Flächen- und Trefferzählung durchgeführt. Aus diesen Werten errechnete sich dann die durchschnittliche Flächengröße der Leydigzellen.

Die Gesamtzahl der Kerne, die über eine Fläche von 50 · 100 N verstreut waren, wurde gesondert festgehalten und verglichen.

b) Bestimmung der prozentualen Flächenanteile von Tubuli, Leydigzellen und Bindegewebe

Mit dem Integrationsokular I, das nach einem Vorschlag von Hennig (53) 25 Testpunkte aufweist, die in der Schärfenebene des mikroskopischen Bildes sichtbar sind, erfolgte die Bestimmung der prozentualen Flächenanteile von Tubuli contorti, Leydigzellen und Bindegewebe.

Zur Vereinfachung des Meßvorganges wurden nur die seltenen Bestandteile (Leydigzellen, Bindegewebe und Schrumpfräume) bei 400-facher Vergrößerung gezählt. Die überwiegende Zahl der Testpunkte konnte dann ohne große Rechenarbeit den Samenkanälchen zugeordnet werden.

Die Auswertung begann am Rande des Präparates; sie wurde in Mäanderlinien weitergeführt und dabei jedes dritte Blickfeld - insgesamt 100 - ausgezählt. Starke Bindegewebssepten, Blutgefäße und Schrumpfräume wurden gesondert erfaßt und von der Gesamtzahl der 2 500 Testpunkte abgezogen. Ihrem Anteil entsprechend wurden eine oder zwei Blickfelder pro Präparat mehr gemessen, um immer ungefähr 2 500 Testpunkte zu erzielen.

c) Fehlerberechnung

Zur Berechnung des Fehlers wurde nach den Angaben von Hennig (53, 54) vorgegangen und die gefundenen Werte in Wahrscheinlichkeitspapier eingetragen. Dabei konnte zugleich ihr Verhalten nach dem Gaußschen Streuungsgesetz kontrolliert werden. Als Beispiel seien die Ergebnisse besprochen, die für die Flächengröße der Leydigzellkerne in Präp. Nr. 42 ermittelt wurden (Abb. 3).

Für jede einzelne der 50 Einstellungen eines Präparates wurde Trefferzahl durch Zellzahl dividiert und die erhaltenen Einzelwerte in Gruppen eingeordnet (Tab. 4). Bei der Gruppenbildung wurde auf- und abgerundet, so daß der Grenzwert der Gruppe jeweils um 1/2 des Gruppenabstandes höher lag als das Gruppenmittel (z. B. reicht Gruppe 1 von 0,95 - 1,05).

Tabelle 4: Häufigkeit, Summenhäufigkeit und prozentuale Summenhäufigkeit der gleichen Flächenwerte (F_m) bei Präp. Nr. 42

$F_m = N \cdot \frac{\Sigma t}{\Sigma p}$	Häufigkeit des gleichen Flächenwertes	Summenhäufigkeit	Prozentuale Summenhäufigkeit
0,7	1	1	2
0,8	1	2	4
0,9	3	5	10
1,0	3	8	16
usw.	usw.	usw.	usw.

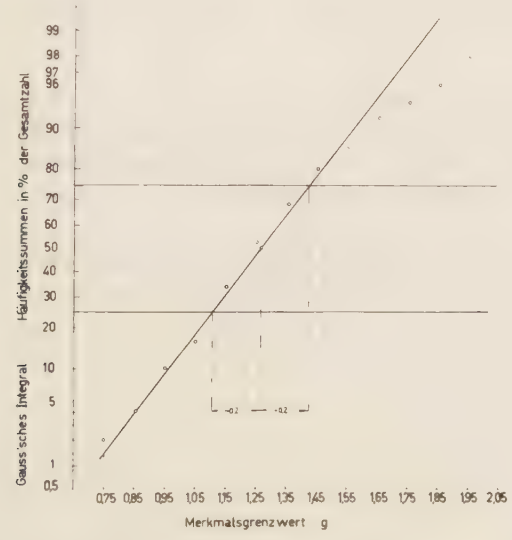


Abb. 3: Kontrolle der Werte im Wahrscheinlichkeitsnetz für das Präparat Nr. 42

Es ist ersichtlich, daß sich die Werte in etwa nach dem Gaußschen Streu ungsgesetz verhalten (Abb. 3).

Der mittlere Fehler für diesen Versuch, abgelesen zwischen den Summer prozenten 25 und 75 des Wahrscheinlichkeitsnetzes, beträgt ±0,2. Das sind ±15, des errechneten Mittelwertes von 1,268 durch welchen die Gerade gezogen wurd

Bei 50 Versuchen verkleinert sich der Fehler nach der Fehlertheorie auf

$$r = \pm \frac{15,9}{\sqrt{50}} = \pm 2,7\ \%.$$

Dieselbe Berechnung wurde auch für 100 und 150 Versuche angestellt. De Fehler konnte dabei weiter verringert werden, jedoch kann man sich mit einem Fehler von annähernd 3 % für die Meßwerte aller Tiere durchaus zufrieden geben, so daß der Zeitaufwand für weitere zusätzliche Messungen nicht gerechtfertigt ist

Für die prozentualen Flächenanteile erfolgte eine ähnliche Kontrolle mit dem Wahrscheinlichkeitsnetz und mit dem zum Integrationssokular gelieferten Nomogramm. Z. B. betrug bei 50 Okulareinstellungen (= 1 250 Testpunkte) der A teil der Leydigzellen bei Präparat Nr. 10 8,8 %. Aus dem Nomogramm konnte da für ein mittlerer absoluter Fehler von ± 0,55 abgelesen werden. Das entspricht ei nem relativen Fehler $r_{rel} = 6,0\ \%$.

Aus dem Wahrscheinlichkeitsnetz ergab sich jedoch für den gleichen Versuch (Abb. 4) ein absoluter Fehler von ± 0,78. Daraus errechnet sich der wahrscheinliche relative mittlere Fehler (r_{rel}) des Einzelversuches zu ± 35,3 % des Mittelwertes (2,21). Bei 50 Versuchen vermindert sich der Fehler auf ±5 %.

Bei 100 Okulareinstellungen, wie sie bei jedem Präparat durchgeführt wur den, verringerte sich der Fehler in diesem Beispiel auf ±3,9 %.

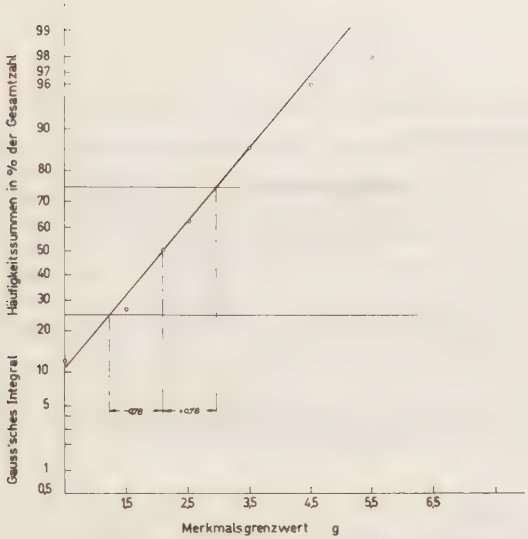


Abb. 4: Kontrolle der Werte im Wahrscheinlichkeitsnetz bei 50 Messungen pro Präparat und einem Leydigzellanteil von 8,8 %.

5) Ergebnisse

a) Prozentuale Flächenanteile der Tubuli, der Leydigzellen und des Bindegewebes im Paraffinschnitt

Bei Altstieren (Gruppe I) konnte für die Tubuli ein Flächenanteil von durchschnittlich 87,1 %, bei Jungstieren (Gruppe II) von 87,62% und bei Kälbern (Gruppe III) von 63,47 % ermittelt werden. (Tab. 5, 6, 7, 13).

Der Anteil der Leydigzellen betrug bei Gruppe I 7,23 %, bei Gruppe II 7,07 % und bei Gruppe III 32,72 % (Tab. 5, 6, 7, 13).

Für die Gruppe I ergab sich ein Bindegewebsanteil von 5,69 % für Gruppe II 5,34 % und für Gruppe III 2,97 % (Tab. 5, 6, 7, 13).

Zwischen den Gruppen I und II konnte für keine der drei Komponenten ein signifikanter Unterschied ermittelt werden. Daher wurden diese Gruppen in der weiteren Berechnung als Einheit behandelt. Die prozentualen Flächenanteile der Tubuli, der Leydigzellen und des Bindegewebes bei den Kälbern unterschieden sich statistisch signifikant von denselben Anteilen der Jungbullen und Altstiere ($P < 0,01$).

Für die 7 Bullen, bei denen eine Spermatogenesestörung diagnostiziert wurde, ohne daß klinisch die Ursache zu ermitteln war (Gruppe IV), wurden für die prozentualen Anteile der Tubuli 86,15 %, der Leydigzellen 7,3 % und des Bindegewebes 6,52 % ermittelt (Tab. 8, 13).

In der Gruppe der Bullen mit gestörter Spermatogenese und klinisch erkennbaren Veränderungen an den Geschlechtsorganen (Gruppe V), ergaben sich für diese 3 Komponenten des Hodens 86,09 % (Tubuli), 6,6 % (Leydigzellen) und 7,31 % (Bindegewebe) (Tab. 9, 13). In gleicher Reihenfolge seien die Werte genannt, die für die Flächenanteile des Hodenparenchyms und -stromas bei Bullen mit fehlender oder mangelnder Libido (Gruppe IV) gemessen wurden: 85,45 %, 6,77 %, 7,11 % (Tab. 10, 13).

Die Ergebnisse für die Bullen mit Störungen im Ablauf der Begattungsreflexe (Gruppe VII) lauten: Tubuli 86,76 %, Leydigzellen 7,25 % und Bindegewebe 5,19 % (Tab. 10, 13).

Vergleicht man nun die Werte der genannten Gruppen mit den entsprechenden der Kontroll- oder Vergleichsgruppen (Altstiere und Jungbullen), so erwies sich der Bindegewebsanteil bei den Bullen, die an einer Hodenentzündung, Fibrose oder Atrophie erkrankt waren (Gruppe V), um 1,78 % ($P \leq 0,01$) und bei der Gruppe der Bullen mit mangelnder oder fehlender Libido um 1,58 % ($P \leq 0,05$) erhöht. Alle übrigen Anteile weisen nur geringe, statistisch nicht gesicherte Unterschiede auf. Bei dem Bullen Nr. 22 aus der Gruppe "Bullen mit Störungen der Spermatogenese ohne klinisch nachweisbare Veränderungen" (Gruppe IV) war der prozentuale Flächenanteil der Tubuli um 6,1 % verringert ($P \leq 0,01$), der des Bindegewebes dagegen um 5,5 % erhöht ($P \leq 0,01$).

b) Prozentualer Flächenanteil der Leydigzellen bei Gefrier- und Paraffinschnitten

Im Gefrierschnitt nahmen die mit Sudanschwarz dargestellten Leydigzellen eine Fläche von 6, 7 % beim Altstier bzw. 6, 23 % beim Jungstier ein. Im Gegensatz zum Paraffinschnitt war dieser Anteil hier um 0, 43 % bzw. 0, 84 % vermindert. (Tab. 5, 6).

Bei den Kälbern mit ihrer großen Menge von sudanophilem Plasma (30, 75 % im intertubulären Raum ließ sich der Unterschied von 24, 30 % zu den Alt- und Jungbullen mit $P < 0,01$ sichern.

Im Gefrierschnitt konnte jedoch das Bindegewebe nicht eindeutig identifiziert werden. Daher erklären sich die niederen Werte für diesen Anteil und die höheren für die Tubuli.

Aufgrund dieses Nachteils wurden von den anderen Hodenproben keine weiteren Gefrierschnitte mehr angefertigt.

c) Flächengröße der Leydigzellkerne im Paraffinschnitt bei 2 300-facher Vergrößerung

In den Hoden der fünf Altbullen war die Fläche der Leydigzellkerne und -anschnitte durchschnittlich 1, 607 cm^2 groß. Für die Jungbullen ergab sich ein annähernd gleicher Wert von 1, 601 cm^2. Da ein Unterschied zwischen diesen beiden Gruppen nicht gegeben war, wurden sie zu einer Vergleichs- oder Kontrollgruppe zusammengefaßt, der ein Mittelwert von 1, 604 cm^2 für die Flächen der Leydigzellkerne und -anschnitte zukam.

Die Leydigzellkerne der Gruppe der Bullen mit Störungen der Spermatogenese ohne klinisch nachweisbare Ursache (Gruppe IV) waren um 0, 102 cm^2 kleiner ($P = 0,05$), bedingt durch die niedrigen Werte von 3 Bullen (Nr. 16: 1, 420 cm, Nr. 18: 1, 405 cm^2, Nr. 19: 1 402 cm^2), die sich signifikant vom Durchschnitt der Kontrollgruppe unterschieden ($P < 0,05$).

Ein Bulle aus der Gruppe mit Libidoschwäche (Nr. 30: 1, 202 cm^2) sowie die mit Testosteronönanthat behandelten Jungbullen (Nr. 42: 1, 29 cm^2, Nr. 43: 1, 32 cm^2) wiesen bedeutend kleinere Leydigzellkerne auf als die Tiere der Kontrollgruppe ($P < 0,01$).

c) Anzahl der Leydigzellkerne und -anschnitte in einer bestimmten Fläche

Eine Fläche von 50 · 100 µ entspricht bei einer 2 500-fachen Vergrößerung 9 750 cm^2.

In dieser Fläche wurden im Durchschnitt bei den Altbullen 536,4, bei den Jungbullen 564,0 und bei den 2jährigen 612,4 Leydigzellkerne und -anschnitte gefunden. Im Vergleich untereinander und mit den übrigen Gruppen ergab die statistische Auswertung keinen Unterschied (Tab. 12).

3) Tabellen

Erklärung zu den Tabellen:

Die Flächenanteile von Tubuli, Leydigzellen und Bindegewebe werden in Trefferzahlen (absolut) und in Prozent (%) angegeben. (100 % entsprechen 2 500 Treffern).

Die Flächenwerte der Leydigzellkerne sind bei 2 500-facher Vergrößerung in cm^2 angegeben.

+	$P < 0,05$	Einzelwerte unterscheiden sich signifikant von den Kontrollwerten der Gruppe I und II.
++	$P < 0,01$	
x	$P < 0,05$	Durchschnittswerte der Gruppen unterscheiden sich signifikant von den Durchschnittswerten der Kontrollgruppe.
xx	$P < 0,01$	

Von den Ergebnissen aus den Gefrierschnitten wurde nur der Anteil der Leydigzellen statistisch bearbeitet.

Die statistische Berechnung wurde nach Mudra (91) durchgeführt.

Tabelle 5: Anteile von Tubuli, Leydigzellen, Bindegewebe und Flächenwerte der Leydigzellkerne bei Altstieren

Gruppe I

Präparat Nr.		Paraffinschnitt 1	2	3	4	5	Gefrierschnitt 1	2	3	4	5
Tubuli	absolut	2212	2115	2129	2225	2206	2169	2175	2162	2162	2228
	%	88,48	84,60	85,16	89,00	88,24	86,76	87,00	86,48	86,48	89,12
Leydigzellen	absolut	163	191	234	169	155	184	158	178	176	154
	%	6,52	7,64	9,36	6,76	6,20	7,36	6,32	7,12	7,04	6,16
Bindegewebe	absolut	125	194	137	116	139	147	167	160	162	118
	%	5,00	7,76	5,48	4,64	5,56	5,88	6,68	6,40	6,48	4,72
Flächenwerte der Leydigzellkerne		1,61	1.524	1.586	1,637	1,65					

Tabelle 6: Anteile von Tubuli, Leydigzellen, Bindegewebe und Flächenwerte der Leydigzellkerne bei Jungstieren

Gruppe II

		Paraffinschnitt					Gefrierschnitt				
Präparat Nr.		6	7	8	9	10	6	7	8	9	10
Tubuli	absolut	2201	2249	2200	2182	2120	2256	2231	2298	2235	2211
	%	88,04	89,96	88,00	87,28	84,80	90,24	89,24	91,92	89,40	88,44
Leydigzellen	absolut	159	142	175	192	216	149	175	128	165	162
	%	6,36	5,68	7,00	7,68	8,64	5,96	7,00	5,12	6,60	6,48
Bindegewebe	absolut	140	113	125	126	164	95	94	74	100	127
	%	5,60	4,52	5,00	5,04	6,56	3,80	3,76	2,96	4,00	5,08
Flächenwerte der Leydigzellkerne		1,524	1,728	1,65	1,581	1,541					

Tabelle 7: **Anteile von Tubuli, Leydigzellen,** Bindegewebe und Flächenwerte der Leydigzellkerne bei Kälbern

Gruppe III

Präparat Nr.		Paraffinschnitt					Gefrierschnitt				
		11	12	13	14	15	11	12	13	14	15
Tubuli	absolut	1441++	1673++	1643++	1610++	1567++	1689	1685	1686	1650	1652
	%	57,64	66,92	65,72	64,40	62,68	67,56	67,40	67,44	66,00	66,08
Leydigzellen	absolut	875++	760++	778++	823++	854++	748	755	760	790	791
	%	35,00	30,40	31,12	32,92	34,16	29,92	30,20	30,40	31,60	31,64
Bindegewebe	absolut	81++	65++	79++	67++	79++	63	60	56	60	57
	%	3,24	2,60	3,16	2,68	3,16	2,52	2,40	2,24	2,40	2,28
Flächenwerte der Leydigzellkerne		1,561	1,546	1,517	1,568	1,586					

Tabelle 8: Anteile von Tubuli, Leydigzellen, Bindegewebe und Flächenwerte der Leydigzellkerne bei Bullen mit Störungen der Spermatogenese ohne klinisch nachweisbare Veränderungen

Gruppe IV

		Präparat - Nr.						
		16	17	18	19	20	21	22
Tubuli	absolut	2152	2204	2186	2163	2193	2161	2017++
	%	86,08	88,16	87,44	86,52	87,72	86,44	80,68
Leydigzellen	absolut	196	180	195	168	170	157	212
	%	7,84	7,20	7,80	6,72	6,80	6,28	8,48
Bindegewebe	absolut	152	116	119	169	137	182	271++
	%	6,08	4,64	4,76	6,76	5,48	7,28	10,84
Flächenwerte der Leydigzellkerne		1,42+	1,52	1,405+	1,402+	1,570	1,618	1,58

Tabelle 9: Anteile von Tubuli, Leydigzellen, Bindegewebe und Flächenwerte der Leydigzellkerne bei Bullen mit Störungen der Spermatogenese mit klinisch nachweisbaren Veränderungen

Gruppe V

		Präparat - Nr.						
		23	24	25	26	27	28	29
Tubuli	absolut	2158	2179	2144	2164	2161	2177	2096
	%	86,32	87,16	85,76	86,56	86,44	87,08	83,84
Leydigzellen	absolut	163	157	162	187	162	139	191
	%	6,52	6,28	6,48	7,48	6,48	5,56	7,64
Bindegewebe	absolut	179	164	194	149	197	184	213
	%	7,16	6,56	7,76	5,96	7,88	7,36	8,52
Flächenwerte der Leydigzellkerne		1,546	1,475	1,62	1,656	1,655	1,603	1,607

Tabelle 10: Anteile von Tubuli, Leydigzellen, Bindegewebe und Flächenwerte der Leydigzellkerne bei Bullen mit mangelnder Libido (Gruppe VI) und Bullen mit Störungen im Ablauf der Begattungsreflexe (Gruppe VII)

		Gruppe VI Präparat-Nr.						Gruppe VII Präparat-Nr.			
		30	31	32	33	34	35	36	37	38	39
Tubuli	absolut	2108	2161	2107	2117	2193	2132	2177	2109	2204	2186
	%	84,32	86,44	84,28	84,68	87,72	85,28	87,08	84,36	88,16	87,44
Leydigzellen	absolut	166	175	181	141	154	198	186	177	179	183
	%	6,64	7,00	7,24	5,64	6,16	7,92	7,44	7,08	7,16	7,32
Bindegewebe	absolut	126	164	212	242	153	170	137	134	117	131
	%	5,04	6,56	8,48	9,68	6,12	6,80	5,48	5,36	4,68	5,24
Flächenwerte der Leydigzellkerne		1,202++	1,476	1,53	1,529	1,526	1,713	1,511	1,53	1,63	1,67

Tabelle 11: Anteile von Tubuli, Leydigzellen, Bindegewebe und Flächenwerte der Leydigzellkerne (2 Messungen von verschiedenen Beobachtern) bei gesunden und Testosteronönanthat-behandelten Jungbullen

Gruppe VIII

			Kontrolle		Testosteron-önanthat	
			Präparat-Nr.		Präparat-Nr.	
			40	41	42	43
	Tubuli	absolut	2230	2256	2239	2234
		%	92,00	90,24	89,56	89,36
	Leydig-zellen	absolut	162	156	166	168
		%	6,48	6,24	6,64	6,72
	Binde-gewebe	absolut	98	88	95	98
		%	3,92	3,52	3,80	3,92
1. Messung	Flächenwerte der Leydigzellkerne		1,73	1,69	1,29+	1,256++
2. Messung	Flächenwerte der Leydigzellkerne		1,67	1,64	1,33+	1,32+

Tabelle 12: Anzahl der Leydigzellkerne in einer Fläche von 50 • 100 N

	Altstiere					Jungstiere					Kälber				
Präparat-Nr.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
Zahl der Zellkerne	495	509	531	561	586	522	528	553	656	511	476	541	519	492	539

	Gruppe IV							Gruppe VI					
Präparat-Nr.	16	17	18	19	20	21	22	30	31	32	33	34	35
Zahl der Zellkerne	401	744	530	495	478	599	837	795	317	635	454	465	503

	Gruppe V							Gruppe VII				Gruppe VIII			
Präparat-Nr.	23	24	25	26	27	28	29	36	37	38	39	40	41	42	43
Zahl der Zellkerne	502	485	649	724	689	659	353	591	548	454	686	652	650	629	671

Tabelle 13: Mittelwerte für die Anteile Tubuli, Leydigzellen und Bindegewebe in Prozent sowie für die Fläche der Leydigzellkerne in cm^2

Gruppe		Paraffinschnitt			Gefrierschnitt	Flächenwerte der Leydigzellen
		Tubuli	Leydig-zellen	Binde-gewebe	Leydig-zellen	
I		87,10	7,23	5,69	6,7	1,607
II		87,62	7,07	5,34	6,23	1,601
III		63,47xx	37,72xx	2,97xx	30,75xx	1,560
IV		86,15	7,30	6,52		1,502x
V		86,09	6,60	7,31xx		1,594
VI		85,45	6,77	7,11x		1,496
VII		86,76	7,25	5,19		1,585
VIII	Kontrolle	91,13	6,86	3,72	1. Messung	1,710
					2. Messung	1,650
	Testosteron-önathat	89,46	6,68	3,86	1. Messung	1,278xx
					2. Messung	1,325xx

IV. DISKUSSION

Die Entdeckung enger funktioneller Beziehungen zwischen Kerngröße und Aktivität der Zelle förderte in zunehmenden Maße das Interesse an karyometrischen Methoden.

Geht man dabei nach dem Prinzip von Delesse vor, wonach sich die Flächenanteile in einem Schnitt, genügend großes Versuchsmaterial vorausgesetzt, ebenso verhalten wie die Volumina, so erhält man relative Bezugsgrössen (54). Bei Zellkernen setzt man aber auch voraus, daß sie einer Kugel oder einem Rotationsellipsoid entsprechen, so daß man ihr absolutes Volumen aus den im histologischen Schnitt zu ermittelnden beiden größten Durchmessern errechnen kann. Zum Teil verzichtet man auf eine Umrechnung und nimmt die Flächenmaße als repräsentativ für die Volumina.

Welches von den zahlreichen möglichen Verfahren man zur Messung heranzieht, hängt von der Fragestellung, der geforderten Genauigkeit und von der Menge des Untersuchungsmaterials ab.

Bei kleinen Versuchsreihen kann die Auswertung direkt unter dem Mikroskop oder mit dem Okularmikrometer vorgenommen werden. In großen Serien ist die Verwendung dieses Gerätes sehr ermüdend und die Genauigkeit wird daher erheblich beeinträchtigt. Rückschlüsse auf die Funktion des inkretorischen Anteils des Hodens können aber nur aus einer relativ großen Zahl von Leydigzellkernen gezogen werden. Die Messung mit dem Okularmikrometer kommt daher nicht in Frage.

In vielen Fällen wird man, um dieses Verfahren zu umgehen, zur Ermittlung der Kernvolumina zunächst die Flächen der Kerne durch Zeichnen oder Photographieren reproduzieren. Dann wird entweder mit Hilfe des Teilchengrössenanalysators oder, wie oben aufgeführt, unter der Annahme, daß der Kern einer Kugel oder einem Rotationsellipsoid entspricht, mittels der beiden größten Durchmesser der Inhalt des Kernes errechnet. Mit der photographischen Wiedergabe werden zwar die Fehler des Zeichnens umgangen, jedoch wird dieser Vorteil durch Randunschärfen der Kerne, die beim Arbeiten in einer Fokusebene und durch die geringe Schärfentiefe, die bei Mikroaufnahmen unvermeidbar sind, wieder aufgehoben.

Wie bereits erwähnt, liefern die genannten Verfahren nur dann genaue Werte, wenn der Kern einer Kugel oder einem Rotationsellipsoid entspricht. In

einem histologischen Schnitt werden diese idealen Verhältnisse aber nur selten vorgefunden. In der Regel wird dann so vorgegangen, daß man im Blickfeld Ke ne, die dieser Idealgestalt am nächsten kommen, sucht.

Das genaueste Verfahren, auch bei unregelmäßig geformten Kernen, ist die Planimetrie. Jedoch trifft man auch bei dieser Methode meist eine Auswahl und beeinflußt so die Ergebnisse. Diese Methode ist zudem zeitlich sehr aufwendig, so daß man sich bei der Messung auf ein Minimum an Flächen beschränkt.

Arbeitet man mit den genannten Methoden sehr sorgfältig, so läßt sich der Mittelwert der Größe der gemessenen Zellen zwar eindeutig festlegen; dieser kann aber, einmal durch die Auswahl, die getroffen wurde, zum anderen durch die geringe Zellzahl, erheblich vom wirklichen Mittelwert aller Zellkerne abweichen.

Verwendet man dagegen die Integrationsmethode, so ist die Einzelmessung relativ ungenau, jedoch ist dabei die Möglichkeit gegeben, in kurzer Zeit eine große Zahl von Blickfeldern auszuwerten. Dabei spielt die Form des Kernes keine Rolle. Ein weiterer Vorteil dieses Verfahrens ist darin zu sehen, daß die Messung in jeder Phase mathematisch genau zu überprüfen ist, und daß die erforderliche Zahl von Meßpunkten für die festgelegte bzw. gewünschte Fehlergrenze vorausberechnet werden kann. Die Genauigkeit ist bei einer Vielzahl von Einstellungen der der Planimetrie gleichzusetzen (38). Eine Reproduktion der Flächengrenzen ist unnötig; man arbeitet direkt unter dem Mikroskop oder mit Hilfe der Projektion.

Zunächst habe ich versucht, die Leydigzellkerne direkt unter dem Mikroskop zu messen. Der Punktabstand im Integrationsokular erwies sich jedoch - auch bei stärkster Vergrößerung - als zu groß, so daß das Häufigkeitsmaximum bei 0 Treffern lag. Erst bei 4Einstellungen (100 Testpunkte) konnten verschieden große Trefferzahlen erhalten werden, die es ermöglichten, eine Streuung zu berechnen. Aus dieser Beobachtung heraus wurde ein Netz mit 100 Punkten konstruiert, das in Anlehnung an das Okular I mit einem Kreis begrenzt war, dessen Fläche gleich dem 100-fachen Netzwert ist. Nur so ist die Bestimmung der durchschnittlichen Flächengröße (F_m) der gemessenen Kerne ohne Fehler möglich. Diese Fläche F_m darf nicht dem Querschnitt der Kerne gleichgesetzt werden, sie entspricht vielmehr bei der Annahme gleich großer, kugeliger Kerne etwa 2/3 des Kugelquerschnittes, da die Kerne in den wenigsten Fällen in ihrem größten Durchmesser geschnitten sind, sondern meist in Kalotten mit allen möglichen Durchmessern vorliegen.

Das Integrationsokular I hat überall dort, wo es nicht auf absolute Werte ankommt, z. B. beim Vergleich von Individuum zu Individuum, von Geschlecht zu Geschlecht oder von Altersgruppe zu Altersgruppe, Eingang in die Histometrie gefunden. Voraussetzung ist jedoch, daß die einzelnen Bestandteile eindeutig zu identifizieren sind. In der Histochemie, in der dieses Verfahren in jüngster Zeit auch zur quantitativen Auswertung eingeführt wurde, ist es notwendig, daß sich der Stoff, der anteilmäßig bestimmt werden soll, färben läßt. Unterschiedliche Mengen dürfen sich dabei nicht durch verschiedene Farbintensität darstellen lassen, sondern sie müssen in der Ausdehnung in Erscheinung treten (78).

Es ist theoretisch möglich, mit dieser Methode willkürlich aus dem Präparat herausgegriffene Blickfelder auszuzählen. Von der wahllosen Verschiebung wurde jedoch abgesehen, da sich herausstellte, daß dabei für die seltenen Bestandteile, wie die Leydigzellen, ein größerer Anteil als in Wirklichkeit vorhanden, bestimmt wurde. Dies läßt sich mit dem Bestreben erklären, immer dort zu messen, wo sich alle drei Komponenten (Tubuli, Leydigzellen, Bindegewebe) gleichzeitig finden. Ebenso werden Blickfelder in der Mitte des Präparates, wie auch von anderer Seite berichtet wird (107), bevorzugt. Um diese Beeinflussung der Ergebnisse durch die Auswahl der Meßstellen zu vermeiden, wurde nach einem bestimmten System verfahren und jedes 3. Blickfeld ausgewertet. So war es möglich, repräsentative Angaben für die prozentualen Anteile der Komponenten zu machen.

Eine verbindliche Aussage über den Fehler dieser Methode kann nur aus dem Wahrscheinlichkeitsnetz erhalten werden (53). Ein biologischer Querschnitt entspricht in der Regel nicht genau den Voraussetzungen der Fehlertheorie (zufällige Verteilung). Das Nomogramm kann daher nur einen ungefähren Anhaltspunkt über den Fehler liefern.

Nach den vorliegenden Ansichten ist die Kerngröße in weitem Maße von zahlreichen Umweltfaktoren abhängig. Karyometrische Untersuchungen wurden aus diesem Grunde und wegen der großen Fehlerquellen der zur Verfügung stehenden Methoden bisher nur angewendet, wenn Versuchstiere gleichen Alters unter gleichen Haltungsbedingungen usw. zur Verfügung standen. Hier wurde der Versuch unternommen, neben dem Anteil der Tubuli, der Leydigzellen und des Bindegewebes des Hodens bei nicht selektierten Tieren physiologische Werte über die Kerngröße der interstiellen Zellen zu erhalten. Mit diesen Daten, die zweifellos eine größere Streuung aufweisen als Resultate, die von ausgewählten Versuchstiergruppen stammen, konnten dann die entsprechenden, an Patienten ermittelten Werte verglichen werden.

Bei quantitativen Kernmessungen wird weiterhin gefordert, daß in einer Versuchsserie die Auswertung durch ein- und denselben Beobachter ausgeführt wird. Bei den bisher bekannten Verfahren erreichten verschiedene Untersucher nach Auswertung des gleichen Materials keine reproduzierbaren Resultate. Mit der hier beschriebenen Methode zur Bestimmung der Flächengröße der Leydigzellkerne gelang es jedoch zu zeigen, daß an denselben Präparaten verschiedene Personen unabhängig voneinander zu vergleichbaren Ergebnissen kamen (Tab. 12).

Zur Bestimmung der prozentualen Anteile der Leydigzellen und der Fläche der Leydigzellkerne bei den Kälbern ist zu sagen, daß es an den praepuberalen Gonaden nicht möglich war, diese Zellen nach morphologischen Kriterien eindeutig zu identifizieren. Es muß daher damit gerechnet werden, daß es sich bei der durchschnittlichen Flächengröße der interstitiellen Zellen bei Kälbern nur um Annäherungswerte handelt.

Die relative Zahl der Leydigzellen wird zur Abschätzung der Androgenproduktion des Hodens ebenfalls herangezogen (128). Nach den Ergebnissen dieser Versuche ist jedoch dieses Kriterium für eine derartige Aussage nicht geeignet, da in jeder Gruppe z. B. bei 6 bis 8 Wochen alten Kälbern und bei Stieren im Alter von 2 bis 5 Jahren, in einer bestimmten Flächeneinheit der histologischen Schnitte ungefähr gleich viel Zellen gefunden wurden.

Um einen Überblick über die prozentualen Flächenanteile der Tubuli, der Leydigzellen und des Bindegewebes im Hoden zu erhalten, wurden zunächst diese 3 Komponenten quantitativ histometrisch bestimmt. Dabei fanden sich bei der Fläche der Leydigzellen, abgesehen von den Kälbern, nur geringe Unterschiede, die statistisch nicht gesichert waren. Hierbei sind jedoch der Methode Grenzen gesetzt, da auch bei speziellen Färbungen die Zellgrenzen nicht immer eindeutig zu erkennen waren. Bei der Bestimmung des Bindegewebes ist das Ergebnis ebenfalls von einem subjektiven Fehler beeinflußt, da alle größeren Septen und Blutgefäße nicht gemessen wurden. Die Entscheidung, welche Septen und Blutgefäße als groß anzusprechen und dann von der Messung auszuschließen waren, konnte nur nach subjektivem Ermessen erfolgen. Besonders erschwert war eine einheitliche Erfassung, wenn eine Vermehrung des Bindegewebes vorlag.

Aus den Werten, die sich aus dieser Untersuchung ergaben, wurde jedoch gefolgert, daß beim Stier ein Bindegewebsanteil von mehr als 7 %, wenn auch erhebliche individuelle Schwankungen vorliegen, als vermehrt anzusehen ist.

Der Ermittlung der prozentualen Anteile der Tubuli lag die Überlegung zugrunde, daß bei gestörter Spermatogenese ein Verlust an Zellen innerhalb der Samenkanälchen eintritt und sich daher der Tubulusdurchmesser und damit auch der Flächenanteil verkleinert. Dieser Nachweis konnte mit dem Integrationsokular auch bei schweren Spermatogenesestörungen nicht erbracht werden.

Eine weitere Auswertung des Germinativmus erfolgte nicht, der Schwerpunkt dieser Arbeit lag vielmehr auf der Untersuchung des endokrinen Teiles des Hodens. Daher wurde auch immer nur ein Hoden bearbeitet, da ein inkretorischer Schaden an beiden Testes in gleicher Weise in Erscheinung tritt.

Die besten Anhaltspunkte über die Funktion des Endokrinums finden sich in der Morphologie der Leydigzellkerne, die daher fast ausschließlich zur Beurteilung herangezogen werden. Die Auswirkungen von Östrogenen und Androgenen auf die Leydigzellen bei Jungbullen untersuchten K a r g und K r o n t h a l e r (65) erstmals bei dieser Spezies mit karyometrischen Methoden. In einer Reihe weiterer experimenteller Arbeiten mit ausgewählten Versuchstieren erfaßte man die Leydigzellen quantitativ histometrisch ebenfalls im relativen Vergleich. Versuche, physiologische Werte zu ermitteln als Ausgangsbasis für eine Abgrenzung pathologischer Prozesse bei Fertilitätsstörungen, wurden noch nicht durchgeführt.

Die Bestimmung der Kernvolumina (65) ergab bei dem hier beschriebenen Material keine verwertbaren Ergebnisse.

Mit der erarbeiteten Integrationsmethode konnte jedoch bei einem Bullen aus der Gruppe der libidoschwachen Stiere ein Tier mit einer sehr kleinen Flächengröße der Leydigzellkerne ermittelt werden. Dieser histometrische Befund an den Zellkernen stimmt annähernd mit den Werten der mit Testosteronönanthat behandelten Jungbullen überein. Es liegt in diesem Falle nahe, ein Versagen des HVL zu vermuten. Das Ausbleiben der Gonadotropine könnte eine Entfaltung der Kerne verhindert haben.

In der Gruppe "Bullen mit Störungen der Spermatogenese ohne klinisch nachweisbare Ursachen" zeigen drei Tiere eine Verkleinerung der Leydigzellen. Im Sperma dieser Bullen fanden sich zwischen 30 % und 70 % pathologische Spermienformen. Hier besteht die Möglichkeit, daß die Sekretion der Hormone des HVL gestört war und die Störung durch das fehlende FSH und ICSH bzw. Testosteron verursacht wurde. Nachdem man aber die wichtige Teilfunktion des Testosterons auf die Spermatogenese und die Lebensdauer der Spermien kennt, muß auch in Betracht gezogen werden, daß die Leydigzellen, obwohl durch die Go-

nadotropine stimuliert, nicht in der Lage waren, das androgene Hormon zu synthetisieren.

Diese Beobachtungen führen zu zwei Folgerungen: Die verwendete Methode zur Bestimmung der Größe der Leydigzellkerne arbeitet genau genug, um zumindest bei stark ausgeprägten Fällen pathologische Werte von physiologischen abtrennen zu können. Damit können, wenn auch nur retrospektiv, gegebenenfalls auch endokrine Störungen des Hodens angesprochen werden.

Die Einteilung des Materials in "Bullen mit Spermatogenesestörungen ohne klinisch erkennbare Ursachen" weist bereits auf die Möglichkeit hin, daß der Funktionsausfall des Germinativmus endokrin bedingt sein kann. Die hormonale Subfunktion wurde bei derartigen Störungen zwar stets in Erwägung gezogen, jedoch konnten mit den bisher zur Verfügung stehenden Methoden selbst krasse Fälle nicht abgeklärt werden.

Die hier erarbeitete Methode zur Bestimmung der Flächengröße der Leydigzellkerne mittels Projektion und einer Schablone, die in Anlehnung an das Integrationsokular entworfen wurde, liefert Werte, die die Möglichkeit eröffnen, das endokrine System der Testes auch für klinische und eventuell für forensische Fragestellungen einer Untersuchung zugänglich zu machen.

V. ZUSAMMENFASSUNG

1) Die Hoden von 5 gesunden Kälbern (6 bis 8 Wochen alt), 5 Altstieren (2 bis 5 Jahre alt) und 5 Jungbullen (10 bis 15 Monate alt) sowie von 24 Bullen mit Fertilitätsstörungen und von 2 mit Testosteronönanthat behandelten Jungbullen wurden mit der Integrationsmethode histometrisch ausgewertet, um morphologische Merkmale für die Funktion des endokrinen Systems der Gonaden zu ermitteln.

2) Zur Bestimmung der Flächengröße der Leydigzellkerne im histologischen Schnitt, die als repräsentativ für das Volumen gilt, wurde das Präparat auf eine kreisförmige Schablone mit r = 7,88 cm und 100 Punkten im Abstand von 1,5 cm projiziert. Die Fläche der Kerne wurde aus dem Verhältnis Zahl der durch Punkte getroffenen Leydigzellkerne zur Gesamtzahl der Leydigzellkerne im Kreis berechnet. Pro Präparat wurden 50 Okulareinstellungen ausgewertet.

3) Die Bestimmung der prozentualen Flächenanteile von Tubuli, Leydigzellen und Bindegewebe erfolgte mit dem Integrationsokular I ("Zeiss").

4) Die Untersuchung der Hoden mit diesen Methoden ergab:

a) Für Altstiere konnte ein physiologischer Flächenanteil der Tubuli von 87,1 %, für Jungstiere von 87,62 % ermittelt werden. Für diese Gruppen ergab sich ein Leydigzellanteil von 7,23 % bzw. 7,07 % und ein Anteil des Bindegewebes von 5,69 % bzw. 5,34 %. Die Flächengröße der Leydigzellkerne betrug bei 2 300-facher Vergrösserung bei den Altstieren 1,607 cm^2, bei Jungstieren 1,601 cm^2.

b) Von 7 Bullen mit Störungen der Spermatogenese ohne klinisch nachweisbare Veränderungen zeigten 3 verkleinerte Leydigzellen ($P < 0,05$). Bei einem Bullen mit Libidomangel waren die Leydigzellen um 0,402 cm^2 verkleinert ($P < 0,01$).

c) Der Anteil des Bindegewebes war bei den Tieren mit Störungen der Spermatogenese aufgrund klinisch nachweisbarer Ursachen um 1,78 % ($P < 0,01$), bei den Tieren mit Libidomangel um 1,58 % ($P < 0,05$) vermehrt.

d) Die durchschnittliche Zahl der Leydigzellen in einer bestimmten Flächeneinheit war bei den Tieren aller Gruppen einschließlich der Kälber ungefähr gleich.

5) Die Bestimmung der Flächengröße der Leydigzellkerne im histologischen Schnitt mittels Projektion und einer Schablone macht das endokrine System der Testes für die Untersuchung klinischer und eventuell auch forensischer Fragestellungen zugängig.

SUMMARY

1) The testes of 5 healthy calves (6 - 8 weeks old), 5 old bulls (2 - 5 years old), and 5 young bulls (10 - 15 months old), as well as of 24 bulls with fertility abnormalities, and of 2 young bulls treated with Testosteronönanthat, were histometrically examined, in order to correlate morphological characteristics with the function of the endocrine system of the gonads.

2) In order to determine the surface area of the Leydig cell nuclei in histological section, which in turn represents the volume of the nucleus, the section was projected on a disc (rad. = 7.88 cm) with 100 dots at 1.5 cm intervals.
The surface area of the nuclei was calculated from the relationship of the number of Leydig cells hit by the dots compared to the total of the Leydig cell nuclei on the disc. For each section 50 ocular diameters were examined.

3) Determination of the proportion of tubuli, Leydig cells, and connective tissue to the total area was accomplished with an Intergration Ocular I (Zeiss).

4) The results of the experiment:

a) In proportion to the total surface area, old bulls physiologically exhibited 87.0 % tubuli compared to 87,62 % for young bulls. The percentages for Leydig cells were 7.23 % and 7.07 % and for connective tissue 5.69 % and 5,34 % respectively. The surface area of Leydig cell nuclei at 2 300 x magnification was 1.607 cm^2 for old animals and 1.601 cm^2 for young animals.

b) Of 7 bulls with defects in spermatogenesis without clinical changes, 3 showed reduction in size of Leydig cell nuclei ($P \leq 0.05$). Bulls with reduced libido exhibited reduction in size of Leydig cell nuclei 0.402 cm^2 ($P \leq 0.01$).

c) The proportion of connective tissue in those animals with spermatogenic abnormalities due to clinically proven causes was increased by 1.78 % ($P \leq 0.01$) and in those with reduced libido increased by 1.58 % ($P \leq 0.05$).

d) The average of Leydig cells in a given unit of area was nearly the same in all test groups of animals, including calves.

5) Calculation of Leydig cell nuclei surface area in histological section by means of projection and disc can enable the clinical and eventual forensic evaluation of endocrine system problems.

VI. LITERATURVERZEICHNIS

1. Abshagen, Klähn und Friedrich (1956):

Über die Ursachen des frühzeitigen Ausscheidens der Deckbullen aus der Landeszucht und ihre Verhütung.
Tierzucht 10, 362

2. Aehnelt, E. und J. Hahn (1966):

Fruchtbarkeitsbeurteilung bei Bullen und Züchtung auf Fruchtbarkeit.
Züchtungskde. 38, 71

3. Aehnelt, E. und J. Hahn (1962):

Zur Schwankung der Spermaqualität bei Besamungsbullen unter besonderer Berücksichtigung von Umweltbelastungen.
Züchtungskde. 34, 63

4. Alfert, M., Bern, H. and R. Kahn (1955):

Hormonal influences on nuclear synthesis. IV. Karyometric and microspectrophotometric studies of rat thyreoid nuclei in different functional states.
Acta anat. 23, 185

5. Allanson, M. and R. Deanesly (1962):

Observations on cadmium damage and repair in rat testes and the effects on the pituitary gonadotrophs.
J. Endocrin. 24, 453

6. Apostolakis, M. und K.-D. Voigt:
Gonadotropine.
Thieme Verlag, Stuttgart 1965

7. Arbeiter, K. (1963):

Untersuchungen über den Einfluß verschiedener Heuqualitäten auf die biologische Samenbeschaffenheit von Ziegenböcken.
Zuchthyg., Fortpfl. Störung u. Bes. d. Haustiere 7, 349

8. Ashbel, R., Cohen, R. B. and A. M. Seligman (1951):

Histochemical demonstration of ketosteroids in normal and neoplastic testes.
Endocrinology 49, 265

9. Bachrach, D., Szabo, E. B., Baradnay, G. and B. Korpassy (1961):

Histophysiological changes of the adrenal cortex of the rat in dehydration and rehydration.
J. Endocrin. 23, 1

10. Baier, W., Haeger, O. und W. Leidl (1955):

Zur Befruchtungsleistung der Bullen.
Beilage Dtsch. tierärztl. Wschr.-Fortpflanzung Zuchthyg. und Haustierbesamung 5, 117

11. Baillie, H. A. (1960):

The biology of the Leydig cell:
Histochemical and histological changes following high epididymal obstructions.
J. Endocrin. 20, 339

12. Baillie, H. A. (1961):

Observations on the growth and histochemistry of the Leydig tissue in the postnatal prepubertal mouse testis.
J. Anat. 95, 357

13. Baker, F. N., Van Demark, N. L. und G. W. Salisbury (1955):

The effect of frequency of ejaculation on the semen production, seminal-characteristics and libido of bulls during the first post-pubertal year.
J. Dairy Sci. 28, 1000

14. Bane, A. und T. Bonadonna:

Fortpflanzung und Fortpflanzungsstörungen der Haussäugetiere.
In: Hammond, Johansson u. Haring: Handbuch der Tierzüchtung
Parey Verlag, Hamburg und Berlin 1958

15. Bascom, K.F. (1923):

The interstitial cells of the gonads of cattle with especial reference of their embryonic development and significance.
Anat. Rec. 31, 223

16. Benninghoff, A. (1950):

Funktionelle Kernschwellung und Kernschrumpfung.
Anat. Nachr. 1, 50

17. Berchtold, M.:

Spermiogenese.
In: Schaetz: Die künstliche Besamung bei den Haustieren.
Fischer Verlag, Jena 1963

18. Bocabella, A.V. (1963):

Reinitation and restoration of spermatogenesis with testosterone-proprionate and other hormones after a long-term post-hypophysectomy regression period.
Endocrinology 72, 787

19. Boccabella, A.V. and G. Materazzi:

The influence of nongonadotrophic hormones on spermatogenesis in the rat.
5. Int. Kongr. tierische Fortpflanzung und künstliche Besamung.
Trient 1964

20. Bogdanove, E.M. (1963):

Direct gonad-pituitary feedback: An analysis of effects of intracranial estrogenic depots on gonadotrophin secretion.
Endocrinology 73, 696

21. Boguth, W., Langendorff, H. und E. Tonutti (1951):

Zellkerngröße als Indikator für die Funktionsbeziehungen Hypophyse-Nebennierenrinde.
Med. Welt 20, 408

22. Bratton, R. W., Salisbury, G. W., Tanabe, T., Branton, C., Mercier, and J. K. Loosli (1948):

Breeding behaviour, spermatogenesis and semenproduction of mature dairy bulls fed rations low in carotine.
J. Dairy Sci. 31, 779

23. Bucher, O. und R. Gattiker (1954):

Karyometrische Untersuchungen an Gewebekulturen. XI. Mitteilung über die Größenbeziehungen zwischen Kern und Kernkörperchen.
Z. mikr.-anat. Forsch. 60, 467

24. Burkl, W. (1954):

Fluorenzensmikroskopischer Nachweis der Sexualhormone in Rattenhoden.
Z. Zellforsch. 40, 379

25. Cheng, P., Ulberg, L. C. and R. E. Christian (1950):

Different intensities of sexual activity in relation of the effect of testosterone proprionate in male rabbit.
Endocrinology 46, 447

26. Christensen, A. K. and N. R. Manson (1965):

Comparative ability of seminferous tubules and interstitial tissue of rat testes to synthesize androgenes from progesterone 4-^{14}C in vitro.
Endocrinology 76, 646

27. Couttie, M. A. and W. K. Hunter:

Sexual behaviour of Aberdeen Angues bulls.
Proc. IIIrd Int. Congr. Anim. Reprod.
Cambridge 1956

28 D'Angelo, S. A. (1959):

Thyroid hormone administration and ovarian and adrenal activity in rats bearing hypothalamic lesions.
Endocrinology 64, 685

29. Davidson, J. M. and W. F. Ganong (1960):

The effect of hypothalamic lesions on the testis and prostate of male dogs.
Endocrinology 66, 480

30. Dempsey, E. W. (1948):

The chemical cytology of endocrine glands.
Recent Progr. Hormone Res. 3, 127

31. Dorfman, R. J., Forchielli, E. and M. Gut (1963):

Androgen biosynthesis and related studies.
Recent Progr. Hormone Res. 19, 251

32. Ehrlich, J. (1959):

Über die klinische Feststellung von Fruchtbarkeitsstörungen bei Zuchtbullen.
Prakt. Tierarzt 47

33. Eichner, D. (1953):

Über den morphologischen Ausdruck funktioneller Beziehungen zwischen Nebennierenrinde und neurosekretorischem Zwischenhirnsystem der Ratte.
Z. Zellforsch. 38, 488

34. Eichner, D. (1952):

Über funktionelle Kernschwellung in den Nuclei supraoptici und paraventriculares des Hundes bei experimentellen Durstzuständen.
Z. Zellforsch. 37, 406

35. Eulig, H.-G. und H. W. Mond (1953):

Der Einfluß der Fixierung auf das Kernvolumen.
Z. wiss. Mikr. 61, 201

36. Faber, H. v. (1955):

Vergleichende Untersuchungen über den Einfluß von Diäthylstilboestrol und der Kastration auf die innersekretorischen Organe des Hahnes.
Z. mikr.-anat. Forsch. 61, 1

37. Faber, H. v. und K. Dittrich (1965):

Karyometrie mit Hilfe des Teilchengrößenanalysators am Beispiel der Schilddrüse.
Zeiss-Mitteilungen 3, 353

38. Fabian, G. (1964):

Gegenüberstellung von Planimetrie und Integration am Endometrium des Schafes.
Berl. Münch. tierärztl. Wschr. 77, 185

39. Federlin, K. und E. Köster (1954):

Der Einfluß verschiedener Fixierungsmittel auf die Kerngröße.
Frankf. Z. Path. 65, 493

40. Flerko, B. and V. Bardos (1961):

Luteinisation induced in "Constant oestrus rats" by lowering oestrogen production.
Acta endocrin., Kbh. 37, 418

41. Folman, Y. and R. Volcani (1966):

Copulatory behaviour of the prepubertally castrated bull.
Anim. Behav. 14, 572

42. Fossland, R. C. and A. B. Schultze (1961):

A histological study of the postnatal development of the bovine testis.
Research Bulletin Univ. of Nebraska
agricul. exper. station 199, 3

43. Fraser, A. F. (1957):

The disposition of the bull.
Brit. J. Anim. Behav. 5, 110

44. Garnier, C.:

Constributions à l' Etude de la structure et du Fonctionnement des Cellules glandulaires sereuses.
Nancy 1899

Zit. nach Hiller: Theoretische und methodische Grundlagen der Kernmessung. Vervielfältigtes Manuskript, Zoolog. Institut der TH Stuttgart 1964

45. Gillissen, G. und J. Gillissen (1956):

Die morphokinetische Beeinflussung der Nebennierenrinde durch Sexualhormone.
Endokrinologie, Lpz. 33, 45

46. Götze, R.:

Besamung und Unfruchtbarkeit der Haussäugetiere.
Schaper Verlag, Hannover 1949

47. Gower, D.B. and G.A.D. Haslewood (1961):

Biosynthesis of androst-16-en-3-ol from acetate by testicular slices.
J. Endocrin. 23, 253

48. Greer, M.A. (1957):

Studies on the influence of the central nervous system of anterior pituitary function.
Recent Progr. Hormone Res. 13, 67

49. Halasz, B., Pupp, L. and S. Uhlarik (1962):

Hypophysiotrophic area in the hypothalamus.
J. Endocrin. 25, 147

50. Harfenmeister, H.:

Betrachtungen über die Hodenfunktion und ihre endokrine Regulation.
vet. med. Diss. Berlin 1965

51. Hatakeyama, S. (1965):

A study on the interstitial cells of the human testis, especially on their fine-structural pathology.
Acta Path. Jap. 15, 155

52. Heller, C.G. und W.O. Nelson (1948):

The testis-pituitary relationship in man.
Recent Progr. Hormone Res. 3, 229

53. Hennig, A. (1957):

Das Problem der Kernmessung. Eine Zusammenfassung und Erweiterung der mikroskopischen Meßtechnik.
Mikrosk. 12, 174

54. Hennig, A. (1958):

Kritische Betrachtungen zur Volumen- und Oberflächenmessung in der Mikroskopie.
Zeiss-Werkzeitschr. 6, 78

55. Hitzeman, S.J.W. (1962):

Development of enzyme ectivity in the Leydig cells of the mouse testis.
Anat. Rec. 143, 351

56. Hohlweg, W. (1961):

Die Wirkung von Testosteron auf die Spermiogenese im Sinne eines Gewebshormons.
8. Symp. Dtsch. Ges. Endokrinologie

57. Hohlweg, W. und K. Junkmann (1932):

Die hormonal-nervöse Regulierung der Funktion des Hypophysenvorderlappens.
Klin. Wschr. 11, 321

58. Hooker, C.W. (1948):

The biology of the interstitial cells of the testis.
Recent Progr. Hormone Res. 3, 173

59. Hooker, C.W. (1944):

The postnatal history and function of the interstitial cells of the testis of the bull.
Amer. J. Anat. 74, 1

60. Inke, G., Palkovits, M., Gyarfas, J. und A. Bajtai (1958):

Über methodische Fragen der Kernvariationsstatistik. IV. Wirkung der verschiedenen Fixier- und Einbettungsmethoden auf das Kernvolumen.
Acta morph. hungar. 8, 233

61. Jaskowski, L. (1963):

Akklimatisation und Sterilität der Haustiere.
Zuchthyg. Fortpfl. Störung u. Bes. d. Haustiere 7, 205

62. Jirasek, E.J. (1962):

Die enzymatische Histotopochemie der Zwischenzellen in den Hoden menschlicher Embryonen.
Acta histochem. 13, 226

63. Johnsen, S.G. (1964):

Studies on the testicular hypophysial feed back mechanism in man.
Acta endocrin., Kbh. 90, 99

64. Julian, M.L. and S.W. Tyler:

Anatomy of the male reproductive organs. In: Cole a. Cupps: Reproduction in Domestic Animals.
Academic Press, New York a. London 1959

65. Karg, H. und O. Kronthaler (1957):

Karyometrische Untersuchungen an den Leydigschen Zwischenzellen von androgen- und östrogenbehandelten Bullen.
Zuchthyg. Fortpfl. Störungen u. Bes. der Haustiere 1, 352

66. Karlson, P.:

Kurzes Lehrbuch der Biochemie für Mediziner und Naturwissenschaftler.
Thieme Verlag, Stuttgart 1964

67. Karras, W. (1953):

Psychogen bedingte Störungen der Spermiogenese als Sterilitätsursache bei einem Zuchtbullen.
Berl. Münch. tierärztl. Wschr. 66, 153

68. Kendrick, J. W. (1954):

Psychic impotence in bulls.
Cornell Vet. 44, 289

69. Koch, G. (1958):

Zellkernmessungen an der experimentell beeinflußten Rattenschilddrüse.
Z. Zellforsch. 47, 517

70. Kovàcs, K., Bachrach, D., Jakobovits, A. und E. Horvath (1954):

Hypothalamohypophyseale Beziehungen der Flüssigkeitsentziehung bei Ratten.
Endokrinologie, Lpz. 31, 17

71. Kracht, J. und M. Spaethe (1954):

Die Karyometrie der Nebennierenrinde und ihre Fehlerquellen.
Z. wiss. Mikr. 62, 227

72. Krantz, H. (1951):

Die Kerngröße und ihre Abhängigkeit von äußeren und inneren Faktoren.
Z. Zellforsch. 35, 425

73. Krantz, K.:

Lebendbeobachtungen an den Zellkernen in der Narkose. Verhandlungen der Anat. Ges. auf der 52. Versammlung in Münster.
Fischer Verlag, Jena 1954

74. Kronthaler, O.:

Karyometrische Untersuchungen über den Einfluß einiger Wirkstoffe auf die Interstitialzellen von Gonaden.
vet. med. Diss. München 1960

75. Kulenkampf, H. und W. Kolb (1960):

Die Tageszeit von Tierversuchen und ihre Bedeutung für karyometrische Untersuchungen. Zugleich eine Besprechung für Anwendung und Leistungsfähigkeit von Großzahlmethodik und Häufigkeitsanalyse nach Daeves und Beckel.
Z. Anat. 122, 121

76. Labhart, A.:

Klinik der inneren Sekretion.
Springer Verlag, Berlin, Göttingen, Heidelberg 1957

77. Leach, B.R., Maddock, W.O., Tokuyama, J., Paulsen, A.C. and W.O. Nelson (1956):

Clinical studies of testicular hormone production.
Recent Progr. Hormone Res. 12, 377

78. Leibnitz, L. (1964):

Das Punktzählverfahren als quantitative Methode in der Histochemie.
Histochemie 4, 123

79. Leidl, W.:

Fortpflanzungsvorgänge.
In: Schaetz: Die künstliche Besamung bei den Haustieren.
Fischer Verlag, Jena 1963

80. Leidl, W.:

Steuerung der männlichen Sexualfunktionen.
In: Schaetz: Die künstliche Besamung bei den Haustieren.
Fischer Verlag, Jena 1963

81. Leidl, W. (1958):

Einfluß der Hodenbiopsie auf die Samenqualität beim Bullen,
Berl. Münch. tierärztl. Wschr. 71, 351

82. Lindner, R. H. (1961):

Androgens and related compounds in the spermatic vein blood of domestic animals. I. Neutral steroids secreted by the bull testis.
J. Endocrin, 23, 139

83. Lindner, H. R. and T. Mann (1960):

Relationship between the content of androgenic steroids in the testis and the secretory activity of the seminal vesicles in the bull.
J. Endocrin. 21, 341

84. Lison, L.:

Histochemie animale. Mèthods et problèmes.
Gauthier-Villars, Paris 1936
Zit. nach Nelson O. a. G. Heller (1948):
The testis in human hypogonadism.
Recent Progr. Hormone Res. 3, 197

85. Ludwig, D. J. (1950):

The effect of androgen on spermatogenesis.
Endocrinology 46, 453

86. Mann, T. (1956):

Male sex hormone and its role in reproduction.
Recent Progr. Hormone Res. 12, 353

87. Maroulis, B.:

Action of gonadotrophins and testosterone on spermatogenesis.
5th World Congr. Fert. Steril. Stockholm 1966

88. McEnery, W. B. and W. O. Nelson (1950):

Cytochemical studies of testicular lipids.
Anat. Rec. 106, 221

89. Mess, B. (1954):

Kernvolumina der Schilddrüse als Maßstab für die thyreotrophe Aktivität des Hypophysenvorderlappens.
Acta morph. hung. 4, 515

90. Meyer, R.K., Leonard, S.L., Hisaw, F.L. and S.J. Martin (1932):

The influence of oestrin on the gonadstimulating complex of the anterior pituitary of castrated male and female rats.
Endocrinology 16, 655

91. Mudra, A.:

Statische Methoden für landwirtschaftliche Versuche.
Parey Verlag, Berlin und Hamburg 1958

92. Müller, M., Liebermann, H. und J. Heinke (1961):

Durchführung und Ergebnisse des Bullengesundheitsdienstes in Mecklenburg.
Zuchthyg. Fortpfl. Störung u. Bes. der Haustiere 5, 115

93. Muschke, H.E. (1953):

Histometrische Untersuchungen am Rattenhoden nach Hypophysektomie und nach Choriongonadotropinzufuhr.
Endokrinologie, Lpz. 30, 281

94. Nalbandov, A.V., Meyer, R.K. and W.H. McShan (1946):

Effect of purified gonadotropes on the androgen-secreting ability of testes of hypophysectomized cocks.
Endocrinology 39, 91

95. Neher, R. and A. Wettstein (1960):

Occurrence of 5 - 3 ß hydroxysteroide in adrenal and testicular tissue.
Acta andocrin. Kbh. 35, 1

96. Nelson, W.O. and C.G. Heller (1948):

The testis in human hypogonadism.
Recent Progr. Hormone Res. 3, 197

97. Neumann, K.:

Zur Anwendung der Gefriertrocknung. Methodische Vorarbeiten für die Untersuchungen an der ruhenden, stimulierten und gehemmten Schilddrüse.
Verhandlungen der Anat. Ges. auf der 52. Versammlung in Münster.
Fischer Verlag, Jena 1954

98. Niemi, M. and M. Ikonen (1961):

Steroid-3 ß-ol-dehydrogenase activity in foetal Leydig cells.
Nature 189, 592

99. Niemi, M. and M. Ikonen (1963):

Histochemistry of the Leydig cells in the postnatal prepubertal testis of the rat.
Endocrinology 72, 443

100. Nikitovitch-Winer, M. B. (1962):

Induction of ovulation in rats by direct intrapituitary infusion of median eminence extracts.
Endocrinology 70, 350

101. Ortavant, R.:

Spermatogenesis and morphology of the spermatozoon.
In: Cole a. Cuppe: Reprodution in Domestic Animals.
Academic Press, New York a. London 1959

102. Plate, P.:

Zur Frage der endokrinen Testesfunktion beim Kryptorchismus und nach Vasoligatur.
(Histometrische Untersuchungen an Rattenhoden)
vet. med. Diss. München 1965

103. Parkes, A. S. (1955):

Endocrinology of the testis.
Brit. med. Bull. 11, 105

104. Pearlman, W. H. and M. R. J. Pearlman (1961):

The metabolism in vitro of 4-Androstene-3, 17-dione-7-H^3. Its localisation in the ventral prostate and other tissues of the rat.
J. biol. Chem. 236, 1321

105. Perlman, P. L. (1950):
The functional significance of testis cholesterol in the rat: Histochemical observations on testes following hypophysectomy and experimental cryptorchidism.
Endocrinology 46, 314

106. Pollock, W. F. (1942):

Histochemical studies of the interstitial cells of the testis.
Anat. Rec. 84, 23

107. Prändl, O.:

Die histologische Analyse von Wurstwaren, Grundlagen für die quantitative Auswertung histologischer Präparate.
vet. med. Habil. München 1961

108. Richter, J. (1936):

Sterilität männlicher Tiere.
Berl. Münch. tierärztl. Wschr. 52, 741

109. Romeis, B.:

Mikroskopische Technik
Oldenbourg Verlag, München 1948

110. Rowson, L. E.:

Libido in the male.
In: Cole a. Cupps: Reproduction in Domestic Animals.
Academic Press, New York a. London 1959

111. Sawyer, C. H.:

Control of Secretion of gonadotropins.
In: Cole: Gonadotropins.
6th Animal Reproduction Symposium August, 13, 1963
Oregon state university, Corvallis
Freeman a. Co. San Francisco a. London 1964

112. Schaetz, F.:

Fortpflanzungsstörungen beim Rind. I. Gestörte Fruchtbarkeit beim Bullen.
In: Küst-Schaetz: Fortpflanzungsstörungen bei den Haustieren.
Enke Verlag, Stuttgart 1965

113. Schilling, E. und A. Krajnc (1965):

Intensive Aufzuchtfütterung und deren Einfluß auf Ejakulat und Keimdrüse bei jungen Bullen.
Züchtungskde. 37, 1

114. Schilling, E.:

pers. Mitteilung

115. Schubert, G. (1957):

Die Aktivität von Hypophyse, Thyreoidea, Epiphyse und ihre Beeinflussung durch Parahydroxypropiophenon, Oestradiol und Testosteron während der Larvalentwicklung von Bufo bufo L.
Roux-Arch. 150, 1

116. Short, R. V. (1962):

Steroids present in the follicular fluid of the cow.
J. Endocrin. 23, 401

117. Simpson. M. E.:

Role of anterior pituitary gonadotropins in reproductive processes.
In: Cole a. Cupps: Reproduction in Domestic Animals.
Academic Press New York a. London 1959

118. Simpson, M. E. and H. M. Evans (1946):

Comparison of the spermatogenic and androgenic properties of testosterone proprionate with those of pituitary ICSH in hypophysectomised 40-day old male rats.
Endocrinology 39, 281

119. Simpson, M. E., Li, C. H. and H. M. Evans (1951):

Synergism between pituitary follicle stimulating hormone (FSH) and human chorionic gonadotropin (HCG)
Endocrinology 48, 370

120. Simpson, M. E., Li, C. H. and H. M. Evans (1944):

Sensitivity of the reproductive system of hypophysectomized 40-day male rats to gonadotropic substances.
Endocrinology 35, 96

121. Slaunwhite, W. R. and L. T. Samuels (1956):

Progesterone as a precursor of testicular androgens.
J. biol. Chem. 220, 341

122. Sluis, van der, L. (1960):

Erfahrung mit der Untersuchung von Bullen für die künstliche Besamung.
Zuchthyg. Fortpfl. Störung u. Bes. d. Haustiere 4, 237

123. Sniffen, C. R. (1950):

The testis, I. The normal testis.
Arch. Path. 50, 250

124. Spannhof, L.:

Einführung in die Praxis der Histochemie.
Fischer Verlag, Jena 1964

125. Stöckl, R.:

Karyometrische Untersuchungen über Nebennierenrindenveränderungen nach Aureomycin- und Vitamin A-Gaben.
vet. med. Diss. München 1956

126. Stylianou, M., Forchielli, E. and R. J. Dorfman (1961):

The metabolism of 4-C^{14} testosterone in rat testis homogenate.
J. biol. Chem. 236, 1318

127. Tala, P. (1953):

Comparison of the epithelial percentage and nuclear volume determinations as indicators of thyroid activity following stimulation by thyrotropin.
Endocrinology 53, 474

128. Tillinger, K. G., Birke, G., Frankson, C., and L. -O. Plantin (1955):

The steroid production of the testicles and its relation to numbe: and morphology of Leydig cells.
Acta endocrin., Kbh. 19, 340

129. Tonutti, E., Weller, O., Schuchardt, E. und E. Heinke:

Die männliche Keimdrüse. Struktur, Funktion, Klinik.
Grundzüge der Andrologie.
Thieme Verlag, Stuttgart 1960

130. Tonutti, E.:

Über die Strukturelemente des Hodens und ihr Verhalten unter experimentellen Bedingungen.
(Hypophysektomie und Substitution mit Choriongonadotropin)
1. Symp. Dtsch. Ges. Endokrinologie 1953

131. Trautwein, K. (1962):

Aufgaben und Bedeutung der Tiergesundheitsdienste für die Tierzucht,
Züchtigungskde. 34, 426

132. Trautwein, K. (1954):

Beobachtungen über die Deckgewohnheiten der Bullen.
Tierzücht. 6, 510

133. Trautwein, K. (1954):

Deckgewohnheiten der Bullen.
Beilage Dtsch. tierärztl. Wschr. Fortpflanzung, Zuchthyg., Haustierbesamung 4, 197

134. Trautwein, K., Bauer, H. und F. Fluhr (1958):

Beobachtungen zur Psychologie der Bullen, speziell zum Deckverhalten.
Zuchthyg. Fortpfl. Störung u. Bes. d. Haustiere 2, 217

135. Van Demark, N. L., Boyd, L. J. and F. N. Baker (1956):

Potential services of a bull frequently ejaculated for four consecutive years.
J. Dairy Sci. 39, 1071

136. Walsh, E. L., Cuyler, W. K. and D. R. Mc Cullagh (1934):

The physiologic maintenance of the male sex glands.
Amer. J. Physiol. 107, 503

137. Wiele, R. L., van de, Mac Donald, P. C., Gurpide, E. and S. Liebermann (1963):

Studies on the secretion and interconversion of the androgens.
Recent Progr. Hormone Res. 19, 275

138. Wislocki, G. B. (1949):

Seasonal changes in the testes, epididymides and seminal vesicles of deer investigated by histochemical methods.
Endocrinology 44, 167

139. Wollrab, J.:

Übersicht über die angeborene und erworbene Hodeninsuffizienz.
In: Küst-Schaetz: Fortpflanzungsstörungen bei den Haustieren.
Enke Verlag, Stuttgart 1965

Herrn Prof. Dr. W. Leidl danke ich für die Überlassung des Themas und für seine freundliche Unterstützung und Hilfsbereitschaft bei der Anfertigung dieser Arbeit.

Mein Dank gilt außerdem Herrn Dr. A. Hennig für seine wertvollen Ratschläge zum Meßverfahren und für die Durchsicht des methodischen Teiles.

Für die Hilfe bei der Herstellung und Auswertung der Präparate möchte ich Frl. L. Strubel, Frau R. Haitchi und Frl. A. Schepelmann danken.

Lebenslauf

Am 19. Februar 1941 wurde ich, Hartmut Ströbel, als Sohn des Lokomotivführers Leonhard Ströbel und seiner Ehefrau Rosa, geb. Zanzinger, in Crailsheim geboren.

Nach dem Besuch der Grundschule trat ich im Herbst 1951 in das Altert-Schweitzer-Gymnasium in Crailsheim ein. An dieser Schule bestand ich im Frühjahr 1960 die Reifeprüfung.

Seit dem Sommersemester 1961 studierte ich Veterinärmedizin an der Universität München. Dieses Studium wurde am 18. Februar 1966 mit der tierärztlichen Prüfung abgeschlossen.